

THESIS

Leiden, 1961

Jane

afg.

MAAG EN MAAGCARCINOOM

EEN HISTOCHEMISCH ONDERZOEK

LANE LIBRARY. STANFORD UNIVERSITY

H. T. PLANTEYDT

MAAG EN MAAGCARCINOOM

EEN HISTOCHEMISCH ONDERZOEK

DRUK: N.V. DRUKKERIJ V/H BATTELJEE & TERPSTRA — LEIDEN

MAAG EN MAAGCARCINOOM

EEN HISTOCHEMISCH ONDERZOEK

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE
LEIDEN, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
DR. G. SEVENSTER, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GODGELEERDHEID, TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP WOENSDAG 1 NOVEMBER 1961 TE 15 UUR

DOOR

HANS TOM PLANTEYDT

GEBOREN TE GOES IN 1927

PROMOTOR:
PROFESSOR DR. TH. G. VAN RIJSSEL

Dit proefschrift werd bewerkt in het Pathologisch Laboratorium der Rijksuniversiteit te Leiden.

De histochemische kleuringen werden gemaakt door mej. M. A. C. Hos, de slijmkleuringen door mej. J. van Driel, mej. W. L. Panhuysen, mej. E. Hooyer en mej. M. E. A. Willemsen.

INHOUD

Inleiding	1
Hoofdstuk I. Literatuuroverzicht	2
„ II. Materiaal en methodiek	7
„ III. De normale maag	15
„ IV. Slijmvliesmetaplasie in de maag (intestinale en praepylorische metaplasie)	25
„ V. Ulcus pepticum chronicum	32
„ VI. Maagcarcinoom	38
„ VII. Reticulosarcoom van de maag	50
„ VIII. Maagtumoren bij dieren	54
„ IX. Samenvattende beschouwingen	67
Samenvatting	71
Summary	75
Lijst van aangehaalde literatuur	79
Aanhangsel I. Gedetailleerde beschrijving van de resultaten van het histochemisch onderzoek van de nor- male maag	88
„ II. Gedetailleerde beschrijving van de resultaten van het histochemisch onderzoek van 50 maag- carcinomen	95
„ III. Gedetailleerde beschrijving van de gebruikte methoden voor de histochemische enzymkleu- ringen	135
Betekenis van de gebruikte afkortingen	146
Illustraties	

INLEIDING

Over het onderling verband tussen de verschillende ziekelijke processen, die in de menselijke maag voorkomen, is reeds veel gediscussieerd in de literatuur. Terwijl sommigen het ontstaan van carcinoom in een chronisch ulcus pepticum (het zogenaamde „ulcuscarcinoom”) als niet zeldzaam beschouwen, menen anderen dat dit nooit of vrijwel nooit voorkomt. Dat carcinoom veel frequenter voorkomt bij patiënten met atrofische gastritis en pernicieuze anaemie, staat nu wel vast. Of hier echter een causale relatie bestaat, is nog een open vraag. Zo is ook het verband tussen intestinale metaplasie en carcinoom nog niet opgehelderd; anderzijds kan nu wel worden aangenomen, dat gastritis een belangrijke rol speelt bij het ontstaan van intestinale metaplasie.

De vraag doet zich voor, of histochemisch onderzoek een bijdrage kan leveren tot de kennis van de verschillende processen en hun onderling verband. Bovendien kan dit onderzoek mogelijk een steun blijken te zijn bij de diagnose en de differentiële diagnose van deze processen. Ook de pathogenese van het maagcarcinoom zou hierdoor mogelijk in een ander licht komen te staan.

Het aantal histochemische methoden, dat thans bekend is, is zo groot dat het niet mogelijk was deze alle toe te passen. De keus is gevallen op enige histochemische enzymbepalingen en slijmkleuringen. Daarnaast zullen hier en daar nog enkele andere technieken vermeld worden.

De histochemische enzymtechnieken hebben het voordeel, dat er een zeer specifieke kleuring ontstaat, al zal ons in de meeste gevallen een nauwkeurige kennis van de rol, die juist dit enzym, juist op deze plaats speelt, ontbreken. Het voorkomen van de verschillende soorten slijm (mucine en mucoid) in het spijsverteringskanaal was aanleiding tot een nader onderzoek naar deze stoffen in de normale en ziekelijk veranderde maag.

Allereerst zal een kort literatuuroverzicht gegeven worden over de problemen, tot de oplossing waarvan dit onderzoek wil trachten een bijdrage te leveren. Vervolgens zal dieper ingegaan worden op de gebruikte methoden en het ter beschikking staande materiaal. Daarna zullen de resultaten besproken worden van het onderzoek van de normale maag, de slijmvliesmetaplasie in de maag, het maagcarcinoom, het ulcus pepticum, enkele andere maagtumoren dan het maagcarcinoom en enkele maagtumoren bij dieren. Na een samenvattende beschouwing en een korte samenvatting met conclusies, volgt de literatuuropgave en als aanhangsel de gedetailleerde resultaten van het onderzoek en de voorschriften van de gebruikte enzymmethoden.

HOOFDSTUK I

LITERATUUROVERZICHT

De maag heeft van oudsher een belangrijke plaats ingenomen in het leven en denken van de mens. De gastronomie had, als leer der fijnproeverij, reeds zeer lang geleden grote hoogten bereikt, terwijl de gastrologie, leer van de bouw en functie van de maag, nog in de kinderschoenen stond. Thans zijn er over deze bouw en functie weliswaar vele feiten bekend, doch er bestaat nog weinig inzicht in het verband tussen beiden. Evenzo is het gesteld met de kennis van de pathologische veranderingen, die in de maag voorkomen en het onderling verband tussen deze aandoeningen.

In de hierna volgende hoofdstukken zal telkens in het kort een overzicht gegeven worden van de gegevens uit de literatuur over de normale maag en duodenum, slijmvliesmetaplasieën, ulcus pepticum, maagcarcinoom, reticulosarcoom en bij dieren bekende maagtumoren. In dit hoofdstuk zal slechts het onderling verband tussen deze ziekteprocessen besproken worden.

Allereerst doet zich daarbij de vraag voor, aan welke criteria het maagslijmvlies dient te voldoen om nog normaal genoemd te mogen worden. Obductiemateriaal is door de vaak voorkomende agonale en autolytische veranderingen niet geschikt voor de studie hiervan; maagresectiepreparaten evenmin, doordat in deze magen vrijwel altijd een ulcus pepticum of een carcinoom voorkomt, terwijl ook door de manipulaties tijdens de operaties afwijkingen voorkomen („surgical gastritis”, SCHINDLER e.a. 1939).

Pas door het onderzoek van gastrobiopsiemateriaal is een goed inzicht verkregen in de variatiebreedte van het normale maagslijmvlies.

De cardiaklieren in het cardiagebied, de mucoide nevencellen, dekcellen en hoofdcellen in het corpusgebied en de praepylorische klieren in het antrum vormen de bestanddelen van het normale maagslijmvlies (zie verder hoofdstuk III).

Het oppervlakte-epitheel bestaat bij een normale maag overal uit slijmnapcellen. Alle structuren, hetzij oppervlakte-epitheel, hetzij klierbuizen, die afwijken van wat onder normale omstandigheden in het betrokken gebied van de maag gevonden wordt, dienen als pathologisch beschouwd te worden. Ook over het aantal lymfocyten en plasmacellen, dat in een normale maag kan voorkomen en dus ook over de criteria van de histologische diagnose gastritis, heeft het onderzoek van gastrobiopsieën inlich-

tingen verschaft. Omdat voor ons onderzoek geen geschikt materiaal van magen met gastritis beschikbaar was, zal hier niet dieper op ingegaan worden.

Het voorkomen van dunne darmepitheel in de maag — intestinale metaplasie — en het voorkomen van praepylorische klieren in het corpusgebied van de maag — praepylorische metaplasie — dienen, gezien bovengenoemde criteria, dus als pathologisch te worden beschouwd. Beide afwijkingen komen op oudere leeftijd frequent voor doch ontbreken geheel bij kinderen. (DEELMAN 1920, GEISSENDÖRFER 1928, MAGNUS 1937, AREY e.a. 1950). Oudere auteurs (o.a. KUPFFER 1883) beschouwden het voorkomen van darmepitheel in de maag als een normaal verschijnsel. Tegenwoordig echter wordt het algemeen als pathologisch beschouwd (o.a. AREY e.a. 1950, MICHALANY 1956 en 1959, PALMER 1952), en wel als een abnormale regeneratie van het maagslijmvlies.

De regeneratie van het oppervlakte-epitheel vindt plaats vanuit de diep in de foveolae gelegen ongedifferentieerde cellen (zie o.a. STARK 1957). In de klierbuizen zijn waarschijnlijk alleen de mucoide nevencellen tot regeneratie in staat. Wanneer door de ontsteking bij een chronische gastritis of bij een ulcus pepticum of een tumor regelmatig meer epitheelcellen te gronde gaan dan onder normale omstandigheden, zal een versterkte regeneratie moeten optreden. Worden daarbij ook de klierbuizen van het corpusgebied aangetast, dan treedt geen regeneratie op van de hoofd- en dekcellen. Een restitutio ad integrum is dus niet meer mogelijk. Het defect kan dan opgevuld worden door de vorming van klierbuizen, die doen denken aan praepylorische klieren; of deze regeneratie plaats vindt vanuit de cellen diep in de foveolae of vanuit de mucoide nevencellen is niet bekend. Het oppervlakte-epitheel kan wel regenereren, waardoor het beeld van de praepylorische metaplasie ontstaat. Wanneer hetzelfde proces plaats vindt in het antrum, ontstaat een beeld dat niet te onderscheiden is van het normale praepylorische maagslijmvlies. Hier is dus waarschijnlijk wel sprake van een restitutio ad integrum. In het antrum kan men dus niet spreken van praepylorische metaplasie.

De cellen diep in de foveolae beschikken ook nog over een andere regeneratiemogelijkheid, n.l. in de vorm van epitheel, dat morfologisch gelijk is aan het epitheel van de dunne darm. Bij uitgebreidere destructie van het maagslijmvlies kan een slijmvlies regenereren, dat geheel gelijk is aan dunne darmslijmvlies, compleet met villi en speciale cellen (cellen van Paneth en argentaffine cellen).

Zowel het voorkomen van een volledig darmslijmvlies in de maag, als het voorkomen van kleine eilandjes dunne darmepitheel, wordt intestinale metaplasie genoemd en in hoofdstuk IV nader beschouwd. Deze vorm van metaplasie kan overal in de maag voorkomen.

Naast beide vormen van metaplasie wordt ook wel een proliferatie gevonden van weinig gedifferentieerde epitheelcellen o.a. als bekleding van

cysteus verwijde klierbuizen. Ook deze cellen zouden uit de diep in de foveolae van de normale maag gelegen cellen voortkomen.

Zowel de intestinale als de praepylorische metaplasie en de proliferatie van weinig gedifferentieerd epitheel worden in normaal maagslijmvlies niet gevonden en juist wel bij chronische (atrofische) gastritis en bij de gastritis bij een ulcus pepticum of carcinoom en zijn dus op te vatten als een versterkte en ook abnormale regeneratie.

Het ulcus pepticum chronicum is een zeer frequente ziekte, waarvan de aetiologie nog grotendeels duister is. Dat het maagzuur en een locale vasculaire factor een rol spelen staat wel vast, terwijl ook het diëncephalon mogelijk voor de genese van het chronische ulcus van belang is. Ongeveer 40% van de chronische ulcera peptica komen in de maag voor, de andere 60% bevinden zich in het duodenum. Van de maagulcera bevindt zich ongeveer 75% in het praepylorische gebied. Deze getallen tonen echter in verschillende landen grote verschillen (SCHADE 1958).

Het histologische beeld van het ulcus is echter in al deze gevallen in principe hetzelfde, alleen het acute ulcus verschilt hiervan duidelijk, doch dit kan hier verder onbesproken blijven.

In het maag- en duodenumslijmvlies rondom het ulcus pepticum wordt een chronische ontsteking van het slijmvlies gevonden met in vele gevallen in het maagslijmvlies gebiedjes van slijmvliesmetaplasie. Deze metaplasie dient beschouwd te worden als een gevolg van de gastritis. Of echter deze gastritis en duodenitis een gevolg zijn van het ulcus pepticum of dat het ulcus een complicatie is van een gastroduodenitis is nog een onuitgemaakte zaak (zie o.a. van KERKWIJK 1938, SCHADE 1958, MARKS en SHAY 1959). Hetzelfde geldt ook voor het verband tussen gastritis en carcinoom: gastritis kan secundair zijn aan carcinoom, terwijl anderzijds gastritis door velen als voorloper van carcinoom wordt beschouwd (KONJETZNY 1928, GUISS en STEWART 1943). Patiënten met een atrofische gastritis zouden een verhoogde kans op carcinoom hebben. Voor lijders aan pernicieuze anaemie, bij wie een atrofie of atrofische gastritis van het maagslijmvlies gevonden wordt, staat de verhoogde kans op maagcarcinoom nu wel vast (JENNER 1938, 1939, MAGNUS 1958). Waarschijnlijk is deze verhoogde kans op carcinoom bij mensen, die een achloorhydrie hebben of lijden aan pernicieuze anaemie, toe te schrijven aan de atrofische gastritis of atrofie, die bij deze mensen gevonden wordt (DOLL 1958).

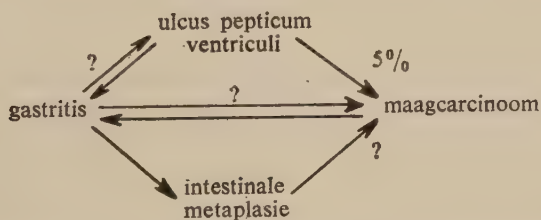
In hoeverre intestinale metaplasie bij dit verband tussen gastritis en carcinoom een rol speelt is een omstreden zaak. Deze metaplasie komt bij chronische atrofische gastritis frequent voor, evenals bij gastritis, bij ulcus pepticum of carcinoom, de frequentie bij pernicieuze anaemie ligt echter nog hoger (MORSON 1955, MAGNUS 1958, DOLL 1958). BONNE e.a. (1938) vonden in Djakarta bij Chinezen meer intestinale metaplasie dan bij Javanen. Het was reeds bekend, dat bij Chinezen meer maagcarcinoom en ulcus ventriculi voorkwamen dan bij Javanen.

Het voorkomen van op darmepitheel lijkende structuren in een aantal maagcarcinomen (MULLIGAN en REMBER 1954, JÄRVI en LAUREN 1951) is door meerdere auteurs vermeld. Deze gegevens hebben sommigen ertoe gebracht de intestinale metaplasie als een praecancereuze toestand te beschouwen (o.a. JÄRVI en LAUREN 1951, MORSON 1955, HESS 1956), terwijl anderen hier niet van overtuigd zijn. Zo meent MICHALANY (1959), dat het voorkomen van op darmepitheel lijkende structuren in maagcarcinoom berust op een metaplasie van de tumorcellen en dat het onjuist is om intestinale metaplasie als een praecancereuze toestand te beschouwen.

Over de mogelijkheid, dat uit een *ulcus pepticum chronicum ventriculi*, een carcinoom zou ontstaan is reeds zeer lang een discussie in de literatuur gaande. De meningen lopen nog steeds uiteen: sommige auteurs menen, dat er nooit een carcinoom uit een *ulcus ventriculi* zou ontstaan, anderen menen, dat dit een frequent gebeuren is, terwijl er zelfs beweerd is, dat ieder maagcarcinoom uit een *ulcus pepticum ventriculi* zou ontstaan. De histologische criteria, die thans algemeen aangelegd worden voor een carcinoma ex *ulcera* zijn de volgende (zie o.a. SCHORNAGEL 1955): onderbreking van de muscularis, uitgebreide fibrose, ook op enige afstand, endarteriitis obliterans of thromboflebitis in de *ulcus*bodem en samensmelting of toenadering tussen de muscularis en de muscularis mucosae. Volgens deze criteria zou 10 à 20% van de carcinomen uit een *ulcus pepticum* ontstaan, terwijl in ongeveer 5% van de *ulcera peptica* zich een carcinoom zou ontwikkelen (o.a. DEELMAN 1956, p. 391, LEVIJ 1959).

Behalve histologische kunnen voor de diagnose carcinoma ex *ulcera* ook klinische criteria worden aangelegd. Over de correlatie tussen beiden is nog weinig bekend.

De besproken relaties tussen *ulcus pepticum*, gastritis, intestinale metaplasie en carcinoom kunnen als volgt in een schema weergegeven worden:



Behalve carcinoom, komen in de maag nog enkele andere typen maligne tumoren voor, waarvan het leiomyosarcoom en het reticulosarcoom de meest frequente zijn. Aangezien wij van de eerste groep tumoren geen exemplaren voor histochemisch onderzoek hebben kunnen bemachtigen, zullen hier alleen de reticulosarcomen kort besproken worden. Deze tumoren ontstaan in het lymforeticulaire weefsel, dat overal in de maag aan-

wezig is. De genese is even duister als die van de reticulosarcomen elders in het lichaam. De histologische differentiële diagnose ten opzichte van het maagcarcinoom kan zeer moeilijk zijn. Toch kan het klinisch van veel belang zijn om te weten met welk type tumor men te maken heeft: het reticulosarcoom is stralengevoelig, terwijl het maagcarcinoom vrijwel ongevoelig is voor stralen. Een hulpmiddel voor de histologische differentiële diagnose zou dus welkom zijn.

De structuur van de maag van dieren toont vaak duidelijke tekenen van overeenkomst met die van de mens. Ongetwijfeld bestaan er daarnaast ook talrijke verschillen. Zeer opvallend is echter, dat bij dieren maagcarcinoom zeer zeldzaam is, in tegenstelling tot de vrij hoge frequentie bij de mens. Bij muizen en ratten zijn wel maagtumoren op te wekken, doch in vele gevallen gedragen deze tumoren zich niet als echte maligne gezwellen. Een in zijn biologisch gedrag met het menselijk maagcarcinoom vergelijkbare tumor wordt alleen gevonden bij de *mastomys natalensis*. Bij dit Zuid-Afrikaanse knaagdier vond OETTLÉ (1957) in ongeveer 40% van 236 spontaan gestorven dieren een maagcarcinoom, veelal met metastasen. Intestinale metaplasie of gastritis werd bij de *mastomys* niet, bij de experimentele muizen en ratten tumoren slechts een enkele maal gezien. *Ulcera peptica ventriculi* zijn bij dieren vrijwel niet beschreven. De verschillen en overeenkomsten tussen de normale maag en de maagtumoren bij de mens enerzijds en bij het dier anderzijds verdienen zeker nadere bestudering. Men dient echter bij de interpretatie van bij dieren gedane waarnemingen en het trekken van een analogie met de menselijke maag zeer voorzichtig te zijn, aangezien zowel de bouw als de functie van de maag bij mens en dier talrijke verschillen vertonen.

HOOFDSTUK II

MATERIAAL EN METHODIEK

Materiaal

Voor het histochemisch enzymonderzoek is het gewenst over weefselstukjes in verse toestand te beschikken. In reeds gefixeerd weefsel zijn vele enzymen namelijk niet meer aantoonbaar. Materiaal uit het archief van het Pathologisch Laboratorium is daarom voor het enzymonderzoek niet bruikbaar. Hetzelfde geldt voor het van elders ingezonden operatiemateriaal, aangezien dit in fixatievloeistof wordt verzonden. Het verzenden van ongefixeerd weefsel heeft bezwaren, aangezien de voor het transport benodigde tijd wisselend en niet altijd van tevoren te bepalen is; de autolyse, door het gedurende langere tijd (enkele uren tot een etmaal) ongefixeerd blijven van het weefsel, bemoeilijkt het histologisch onderzoek en maakt de histochemische enzymbepalingen onbetrouwbaar. Daarom werden geen pogingen ondernomen vers weefsel van elders te betrekken; dit zou te veel organisatorische moeilijkheden met zich mee hebben gebracht. Voor het enzymonderzoek kon zodoende slechts beschikt worden over het materiaal uit de afdeling Heelkunde van het Academisch Ziekenhuis te Leiden, het Diaconessenhuis te Leiden en in enkele gevallen uit het Diaconessenhuis Bronovo en het Rode Kruis Ziekenhuis te 's-Gravenhage.

Het weefsel werd na de operatieve verwijdering zo snel mogelijk naar het Pathologisch Laboratorium getransporteerd. In de genoemde ziekenhuizen wordt veelal bij operaties wegens maagcarcinoom vriescoupe-onderzoek tijdens de operatie verricht. Daarbij worden lymfklieren, resectieranden of proefexcisies uit de tumor histologisch onderzocht, om de operateur reeds tijdens de operatie in te kunnen lichten over de aard en de uitbreiding van de betrokken tumor. Zodoende is het weefsel vrijwel onmiddellijk na de operatieve verwijdering in handen van een patholoog-anatoom, die direct na het histologische spoedonderzoek, het materiaal naar het Pathologisch Laboratorium overbrengt. Zo enigszins mogelijk werd voor het histochemisch enzymonderzoek geen weefsel genomen, dat reeds bevroren is geweest tijdens het vriescoupe-onderzoek en daarna weer ontdooid is. In enkele gevallen was dit echter niet mogelijk door de geringe hoeveelheid van het beschikbare materiaal (b.v. wanneer alleen een proefexcisie was verricht uit een inoperabele tumor).

Op deze wijze werd de beschikking verkregen over stukjes van 50 maagcarcinomen. In 38 gevallen was de gehele tumor verwijderd en kon-

den hieruit een of meer stukjes voor histochemisch onderzoek genomen worden, in de overige 12 gevallen waren slechts stukjes van een metastase, een recidief of slechts een proefexcisie uit de primaire tumor beschikbaar. Bovendien werden stukjes van 6 andere maligne maagtumoren op dezelfde wijze onderzocht, terwijl voor het histochemisch enzymonderzoek tevens gebruik werd gemaakt van een aantal andere maagresectiepreparaten. Uit 31 van deze preparaten werd een reep slijmvlies langs de kleine curvatuur over de volle lengte van het resectiepreparaat inclusief de smalle duodenummanchet uitgenomen; in de meeste van deze resectiepreparaten werden tevens ulcera peptica van de maag of het duodenum of littekens van ulcera gevonden, in enkele gevallen betrof het maagresecties, die verricht werden als onderdeel van de operatie volgens Whipple wegens een carcinoom van de papil van Vater. Uit 17 andere maagresectiepreparaten werd een stukje uitgenomen langs de kleine curvatuur, reikend van 4 tot 9 cm boven de pylorus; deze stukjes bevatten vrijwel allemaal de overgang van het corpusslijmvlies naar het praepylorische slijmvlies. Uit 11 preparaten werden diverse stukjes uitgenomen, o.a. uit de voorwand en de achterwand zowel van het corpus als van het antrum. Bovendien werden 12 ulcera ventriculi en 1 ulcus duodeni histochemisch onderzocht. In totaal werd van 115 patiënten materiaal onderzocht.

De te onderzoeken weefselstukjes werden op het Pathologisch Laboratorium met behulp van koolzuursneeuw vastgevroren op kleine messing tafeltjes, die passen in het gebruikte Spencer microtoom. Onder het weefselstukje werd een stukje filtreerpapier gelegd om een goede hechting in bevroren toestand te verzekeren; tevens werd het stukje voor dit doel rondom nat gemaakt met leidingwater. De tafeltjes met de bevroren weefselstukjes werden daarna in de cryostaat geplaatst.

De cryostaat is een soort ijskast, waarin een microtoom is geplaatst. In de cryostaat wordt een temperatuur van -16° tot -18°C gehandhaafd. De in het Pathologisch Laboratorium te Leiden gebruikte cryostaat is op aanwijzingen van Willighagen geconstrueerd door de firma Esta te Amersfoort. In deze cryostaat is een Spencer microtoom geplaatst. Voor een uitvoerige beschrijving zie Willighagen (1959, 1960).

Van ieder stukje worden 25 à 30 coupes gesneden, die in de diepvrieskast bewaard worden, tot zij voor de enzymkleuringen worden gebruikt. Behalve de enzymkleuringen, worden van ieder stukje nog een of meer coupes gekleurd met haematoxyline-eosine, perijoodzuur-Schiff en met Sudan III.

Voor de slijmkleuringen werd in formaline gefixeerd materiaal gebruikt, waarvan op de gewone wijze paraffinecoupes werden vervaardigd.

Behalve van de bovengenoemde en in aanhangsel II gedetailleerd beschreven 50 maagcarcinomen, werden ook slijmkleuringen verricht op coupes van een aantal in het archief van het Laboratorium aanwezige maagcarcinomen, van een aantal slijmvormende carcinomen van andere

organen en van talrijke stukjes maagslijmvlies uit vele maagresectie-preparaten.

Histochemische enzymtechnieken

In 1939 publiceerden GOMORI en TAKAMATSU onafhankelijk van elkaar een methode om in weefselcoupes de localisatie van alkalische fosfatase te bepalen. Sindsdien zijn voor ongeveer 45 verschillende enzymen histochemische methoden bekend geworden. Aangezien het praktisch niet mogelijk is al deze methoden op hetzelfde materiaal toe te passen, werd hieruit een keuze gedaan. In totaal werden 20 verschillende technieken toegepast, sommige daarvan echter slechts een enkele maal. In het grootste deel van het beschikbare materiaal werden 12 verschillende enzymen histochemisch bepaald. De keuze van deze methodieken werd bepaald door het feit, dat deze 12 methoden in het Pathologisch Laboratorium te Leiden reeds voor talrijke andere onderzoeken in gebruik waren. De in de literatuur beschreven methoden voor deze enzymen geven vaak geheel verschillende fixatiemethoden aan. Teneinde een efficiënte werkwijze te bevorderen werden alle methoden aangepast aan het gebruik van in de cryostaat gesneden coupes van vers weefsel. De toegepaste methoden voor al deze enzymen worden in aanhangsel III gedetailleerd beschreven.

Thans zullen de verschillende enzymen in het kort besproken worden. Voor uitvoerige gegevens omtrent deze enzymen zij verwezen naar PEARSE (1960) voor de histochemische aspecten en naar DIXON en WEBB (1958) en BALDWIN (1957) voor de biochemische aspecten. De achter de enzymen vermelde nummers komen overeen met de door Dixon en Webb aan het betrokken enzym gegeven nummers.

Tot de hydrolytische enzymen behoren:

Alkalische fosfatase (D.W. 106) (ook wel fosfomonoesterase I genoemd) is het enzym dat de mono-esters van orthofosforzuur hydrolyseert in alkalisch milieu. De gebruikte methode (GOMORI 1952), waarbij natriumglycerofosfaat als substraat dienst doet, berust op het neerslaan van de vrijgekomen fosfaationen als calciumfosfaat, dat daarna via een substitutie met cobaltsulfide zichtbaar gemaakt wordt als een bruin-zwart neerslag. De methode werd door WILLIGHAGEN (1960) enigszins gewijzigd. Over de betekenis van de kernkleuring bij de methode van Gomori is een uitgebreide discussie geweest. Thans wordt algemeen aangenomen, dat dit een artefact is en alleen voorkomt bij lange incubatietijden.

Zure fosfatase (D.W. 107) (ook wel fosfomonoesterase II genoemd) is het enzym dat mono-esters van orthofosforzuur splitst in zuur milieu. Bij de gebruikte methode (GOMORI 1952) wordt het uit natriumglycerofosfaat afgesplitste fosfaat neergeslagen als loodfosfaat, dat daarna wordt omgezet in loodsulfide. Dit is als een bruin tot zwart neerslag zichtbaar. Ook deze methode is door WILLIGHAGEN (1960) aangepast aan het gebruik van cryostaatcoupes.

5-Nucleotidase (D.W. 108) hoort tot de specifieke alkalische fosfasaten, d.w.z. dit enzym splitst vrijwel alleen adenosine 5-fosfaat, in tegenstelling tot de bovengenoemde alkalische fosfatase, die vele fosfaten in alkalisch milieu splitst. De localisatie van dit enzym is veelal een geheel andere dan van alkalische fosfatase. De techniek berust op het zelfde principe als die van de bovenbeschreven enzymen. Alleen dient bij de interpretatie van de resultaten wel rekening te worden gehouden met het feit, dat ook alkalische fosfatase adenosine 5-fosfaat splitst.

Adenosinetrifosfatase (D.W. 180, 181) wordt bepaald met een techniek die zeer verwant is aan die van 5-nucleotidase. A.T.P.-ase breekt adenosinetrifosfaat (A.T.P.) af tot adenosine difosfaat (A.D.P.). Dit enzym speelt een belangrijke rol in het levende organisme bij de productie en omzetting van energie. De gebruikte methode (WACHSTEIN en MEISEL 1957) toont mogelijk een andere A.T.P.-ase aan dan het door PADYKULA en HERMAN (1955) in mitochondriën gevonden enzym.

Niet-specifieke esterase (D.W. 89) wordt met een drietal verschillende technieken bepaald (α -naphthylacetaat, broomindoxylacetaat en α -naphthol AS-D acetaat methode). Met deze methoden wordt hoofdzakelijk die groep enzymen aangetoond, die bij voorkeur esters van eenvoudige alifatische carbonzuren hydrolyseren. De localisatie van de enzymen met deze drie methoden toont in het algemeen geen grote verschillen. Op verschillen in het normale maagslijmvlies zal in hoofdstuk III nog verder ingegaan worden. Methoden voor specifieke esterases werden niet gebruikt.

Leucine aminopeptidase (D.W. 38) hydrolyseert peptiden, die een vrije α -aminogroep bezitten in terminale leucine of een aanverwant aminozuur. Dit enzym komt o.a. in darmsap voor. Bij de gebruikte methode wordt L-leucyl- β -naphthylamide als substraat gebruikt en door het enzym gesplitst, waarbij de vrijgekomen naphthylamide met Garnet GBC salt een gekleurd neerslag geeft. In de op deze wijze gekleurde coupes werden na enige tijd grillig gevormde gasbellen gevonden; de ontstaanswijze hiervan is nog niet opgehelderd. De beoordeling van de preparaten werd door deze gasbellen niet belemmerd.

Over de functie van de genoemde hydrolytische enzymen in bepaalde stofwisselingsprocessen is nog slechts weinig bekend. Voor een overzicht hiervan zij naar de literatuur verwezen (o.a. BALDWIN 1957). De weinige gegevens die bekend zijn over de rol van deze enzymen in de maag, zullen in de beschouwingen van de volgende hoofdstukken besproken worden. Men dient zich er echter zeer wel van bewust te zijn, dat bij het histochemisch enzymonderzoek het enzym ook gebruikt kan worden als een zeer specifieke indicator; de functie van het enzym komt daarbij in het geheel niet in het geding, terwijl toch uit het al of niet aanwezig zijn van bepaalde enzymen (indicatoren) in bepaalde cellen of structuren, conclusies kunnen worden getrokken, zoals uit de volgende hoofdstukken zal blijken.

Tot de dehydrogenasen behoren de overige onderzochte enzymen: *Barnsteenzuurdehydrogenase* (D.W. 338) is de enige histochemisch aantoonbare dehydrogenase, die geen coënzym nodig heeft. Het enzym katalyseert de oxydatie van barnsteenzuur tot fumaarzuur. Deze reactie speelt o.a. een belangrijke rol in de citroenzuurcyclus, die van groot belang is voor de energieproductie in het organisme.

Melkzuurdehydrogenase (D.W. 288) hoort tot de dehydrogenasen, die coënzym I (D.P.N., difosfopyridine nucleotide) als directe waterstof acceptor nodig hebben. Het met de gebruikte methode bepaalde enzym katalyseert de oxydatie van melkzuur tot pyrodruivenzuur en speelt een belangrijke rol in de stofwisseling van spieren en andere organen en weefsels, o.a. bij de glycolyse.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase (D.W. 292) heeft eveneens coënzym I nodig als waterstof acceptor. Het enzym katalyseert de omzetting van β -hydroxyboterzuur in acetoazijnzuur en omgekeerd en speelt een belangrijke rol bij de vetzuurstofwisseling.

Isocitroenzuurdehydrogenase (D.W. 304) heeft coënzym II (T.P.N., trifosfopyridine nucleotide) als waterstof acceptor nodig. Het enzym oxydeert isocitroenzuur tot oxaalbarnsteenzuur. Dit proces is reversibel en wordt meestal gevolgd door een omzetting in α -ketoglutaarzuur. Het enzym speelt een belangrijke rol in de citroenzuurcyclus.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase (D.W. 312) heeft eveneens coënzym II nodig als waterstof acceptor. Het enzym katalyseert de oxydatie van glucose 6-fosfaat tot gluconzuur 6-fosfaat en omgekeerd. Dit is een zeer specifieke dehydrogenase, die een belangrijke rol speelt in het enzymketenproces, dat van hexose naar de pentosen leidt.

Over de functie van deze dehydrogenasen is veel meer bekend dan van de hydrolytische enzymen. In hoeverre de processen, waarin deze enzymen een rol spelen, in bepaalde cellen plaats vinden is veel minder bekend; zo is wel bekend, dat isocitroenzuurdehydrogenase een rol speelt in de citroenzuurcyclus; over de rol, die dit enzym in deze cyclus speelt in een bepaald soort cellen, b.v. de dekcellen, die verantwoordelijk gesteld worden voor de zoutzuurproductie in de maag, is echter vrijwel niets bekend. Ook deze dehydrogenasen kunnen als specifieke indicatoren dienst doen; een nadeel daarbij is, dat de dehydrogenasen in zeer vele celsoorten aantoonbaar zijn, en men voor het gebruik als indicator dus meer aangegeven is op een kwantitatieve beoordeling dan op een kwalitatieve.

Slijmkleuringen

Over de verschillen in kleureigenschappen van slijm in allerlei celsoorten is nog weinig bekend. PEARSE (1960) noemt de toegepaste histochemie van de mucinen een zeer verwaarloosd gebied.

Van oudsher heeft men onderscheid gemaakt tussen mucine of echt slijm, en mucoid of pseudomucine. Het slijm in het oppervlakte-epitheel

van de maag beschouwde men als mucoid, terwijl het slijm in het darm-epitheel mucine werd genoemd. Over de criteria echter, die men aan de kleureigenschappen van beide slijmsoorten stelde, wisselen de opgaven in de literatuur. CLARA (1940) vermeldt dat het oppervlakte-epitheel van de maag, de cardiaklieren, de praepylorische klieren en de klieren van Brunner positief kleuren met Best's carmijn en negatief met mucicarmijn en mucihaemateïne; echt slijm vertoont juist omgekeerde kleurreacties. ROMEIS (1948) vermeldt, dat de mucoïde klieren (en hier worden als zodanig genoemd het oppervlakte-epitheel van de maag, de praepylorische en cardiaklieren) positief kleuren met mucicarmijn, mucihaemateïne en Best's carmijn en metachromasie vertonen met thionine. LILLIE (1954) constateert dat maagslijm zich niet kleurt met mucihaemateïne en wel met mucicarmijn, terwijl het darmslijm met beide methoden positief kleurt. GOMORI (1952/53) meent, dat mucoid positief kleurt met Best's carmijn, maar niet met mucicarmijn en mucihaemateïne; evenmin kleurt mucoid zich metachromatisch met toluidineblauw. Echte mucine kleurt zich volgens Gomori met mucicarmijn en mucihaemateïne positief; ook kleurt het zich metachromatisch met toluidineblauw. In een later artikel vermeldt GOMORI (1954), dat het slijm van het oppervlakte-epitheel zich wel, zij het zwak met mucicarmijn kleurt.

Er is blijkbaar op dit punt weinig overeenstemming. Alleen over het feit, dat mucoid niet metachromatisch kleurt met thionine of toluidineblauw, zijn alle genoemde auteurs het eens. De indeling in mucine en mucoid wordt tegenwoordig weinig meer gebruikt. Volgens GOMORI (1954) hoort datgeen wat men kleurtechnisch onder mucine verstaat, chemisch gesproken tot de groep van de zure mucopolysacchariden. Het mucoid zou tot de neutrale mucopolysacchariden behoren. Deze mucopolysacchariden vormen complexen met eiwitten, waardoor de viscositeit ontstaat (FLOREY 1958). Zowel de zure als de neutrale mucopolysacchariden horen tot de macromoleculaire koolhydraten, waartoe door HALE (1957) ook de volgende groepen worden gerekend: polysacchariden, mucoproteïnen, glycoproteïnen en glycolipiden. Tot de groep der polysacchariden behoren glycogeen, zetmeel en cellulose; bij totale hydrolyse leveren deze stoffen alleen glucose op. Mucoproteïnen zijn polysacchariden, die chemisch gebonden zijn aan peptiden. Het hexosaminegehalte van deze stoffen is hoger dan 4%. Is dit gehalte lager dan 4%, dan spreekt men van glycoproteïnen. Tot de mucoproteïnen behoren het mucoid van de glandula submaxillaris, de mucoproteïnen van het serum en de grootste fractie van het maagslijm van het varken (MEYER e.a. 1937). Tot de glycoproteïnen horen fracties van de serumeiwitten, het collageen en het reticuline. De cerebrosiden behoren tot de groep der glycolipiden en bevatten vetzuur, sphingoïne en suiker. Deze verbindingen komen o.a. in het centrale zenuwstelsel voor.

De aanvankelijk voor de differentiatie van mucoid en mucine gebruikte

methoden, zijn alle empirische methoden, waarvan het histochemische mechanisme niet duidelijk is. Van enkele andere recente technieken is de chemische achtergrond veel beter bekend (PEARSE 1960, CURRAN 1961).

De belangrijkste histochemische reactie op koolhydraten is de *perjoodzuur-Schiff-reactie* (PAS-reactie), die door MC. MANUS (1946), LILLIE (1947) en HOTCHKISS (1948) in de histochemie werd ingevoerd. De reactie berust op de oxydatie van chemische groepen door perjoodzuur, waarbij aldehydgroepen vrijkomen. Deze groepen reageren daarna met het reagens van Schiff (leucofuchsiene) en vormen een rode kleurstof. De hoeveelheid gevormde kleurstof is afhankelijk van het aantal aldehydgroepen, dat door oxydatie is vrijgekomen. Het voordeel van perjoodzuur boven andere oxyderende stoffen is, dat het perjoodzuur de aldehydgroepen niet verder oxydeert. Volgens HOTCHKISS (1948) geven de volgende in menselijk of dierlijk weefsel voorkomende stoffen een positieve PAS-reactie: monosacchariden, polysacchariden, mucoproteïnen, glycoproteïnen, gefosforyleerde suikers, cerebrosiden en inositol bevattende lipiden. Na fixatie in waterig milieu geven echter alleen stoffen met een hoog moleculairgewicht een positieve reactie. Dit zijn: neutrale polysacchariden, mucoproteïnen en mucine. LEBLOND e.a. (1957) menen dat in paraffinecoupes, als het glycogeen daaruit verwijderd is, nog slechts een groep stoffen PAS positief reageert, nl. de koolhydraat-eiwitcomplexen; zij rekenen hiertoe een deel van de neutrale mucopolysacchariden en de mucoproteïnen en glycoproteïnen. Zure mucopolysacchariden zijn zelf PAS-negatief. De zwak positieve PAS-reactie van sterk metachromatisch kleurend weefsel, waarin vele zure mucopolysacchariden voorkomen, is te wijten aan bijmenging van neutrale polysacchariden. Bij ons onderzoek werd ook nog gebruik gemaakt van de PAS-kleuring na een voorbehandeling met speeksel. De inwerking van speeksel gedurende een kwart tot een half uur bij kamertemperatuur is namelijk voldoende om het glycogeen uit de coupes te verwijderen. Op deze wijze kan dus vastgesteld worden, of PAS-positief materiaal glycogeen is.

HALE (1955, 1957) constateerde dat formalinefixatie de intensiteit van de PAS-kleuring in sommige weefsels deed verminderen, met name was dit het geval met slijm in het rectum en niet met het slijm van de maag. Door hydrolyse in natronloog voor de oxydatie met perjoodzuur trad echter weer een sterkere kleuring op. Ook deze hydrolyse werd door ons toegepast.

Andere oxyderende stoffen, die gebruikt kunnen worden voor het vrij maken van aldehydgroepen zijn o.a.: lood tetra-acetaat, chroomzuur (BAUER 1933) en kaliumpermanganaat (CASELLA 1942). Lood tetra-acetaat oxydeert echter niet dezelfde groepen als het perjoodzuur, terwijl chroomzuur en kaliumpermanganaat wel dezelfde groepen oxyderen (LILLIE 1951) maar deze stoffen oxyderen een deel van de gevormde aldehydgroepen verder

tot carboxylzuurgroepen. De resultaten van deze drie reacties, waarbij ook weer het reagens van Schiff gebruikt wordt om de aldehydgroepen aan te tonen, zijn dan ook niet identiek met die van de PAS-reactie. Deze laatste geeft veel fraaiere resultaten en wordt dan ook algemeen geprefereerd. Bij ons onderzoek werd de chroomzuur en kaliumpermanganaatoxydatie gebruikt. GOMORI (1952) gebruikte in plaats van leucofuchsiene ook wel methenaminezilver. Zelf gaf hij echter reeds aan, dat deze methode minder specifiek en minder betrouwbaar is. De perijoodzuurmethenaminezilvermethode werd bij ons onderzoek slechts een enkele maal gebruikt. Ter controle werd ook een methenaminezilverkleuring verricht.

Voor het aantonen van metachromasie werd van de thionine- en toluidineblauwkleuringen gebruik gemaakt. Een sterke metachromasie wijst op de aanwezigheid van zure mucopolysacchariden.

Alcian blue en astrablau (Bayer) zijn moderne en eenvoudig toe te passen kleurstoffen uit de groep van de koperphthalocyaneverbindingen. Beide kleurstoffen zouden bij het gebruik van korte kleurtijden specifiek zure mucopolysacchariden aantonen. Door FASSKE (1957) werden geen belangrijke verschillen gevonden tussen alcian blue en astrablau kleuringen. Voor nadere gegevens over deze kleuringen zij verwezen naar de literatuur (alcian blue: PEARSE 1960; astrablau: GEDIGK 1956, PIOCH 1957, MÜLLER 1957).

De colloidaal ijzer-kleuring werd door HALE (1946) geïntroduceerd en o.a. door RINEHART en ABU'L HAJ (1951) gemodificeerd. Volgens PEARSE (1960) zou de specificiteit van deze methode voor zure mucopolysacchariden niet volledig zijn, maar hij beschouwt de kleuring toch als bruikbaar in de toegepaste histochemie.

In enkele gevallen werden bij ons onderzoek combinaties van PAS- en astrablaukleuring toegepast. Als controle werd hierbij nog een astrablaukleuring na perijoodzuuroxydatie gedaan.

Van de klassieke empirische kleuringen werden de mucicarmijn en mucihaemateïne kleuring toegepast, terwijl een enkele maal ook de aldehydfuchsienekleuring (GOMORI 1950) en de Azan-kleuring gebruikt werden. Alle bovenbeschreven methoden werden toegepast op coupes van normaal maagslijmvlies, metaplastisch maagslijmvlies en enkele gevallen van maagcarcinoom en enkele andere slijmvormende carcinomen.

Voor de meeste onderzochte maagcarcinomen, waaronder de 50 in ahangsel II beschreven tumoren, werd slechts van een beperkt aantal slijmkleuringen gebruik gemaakt, aangezien gemeend werd, dat toepassing van meer slijmkleuringen niet veel meer informatie zou opleveren. De keuze viel daarbij op de PAS-, astrablau- en colloidaal ijzerkleuringen.

HOOFDSTUK III

DE NORMALE MAAG

Het is niet eenvoudig om voor een histochemisch onderzoek een normale maag ter beschikking te krijgen. Magen, die bij obducties worden verkregen, tonen vaak praemortale en postmortale veranderingen, waardoor het beeld morfologisch afwijkend is; bovendien is het postmortale tijdsverloop meestal zodanig (enkele uren), dat de betrouwbaarheid van het enzymonderzoek dubieus moet worden geacht. Anderzijds toont het slijmvlies van een stuk maag, dat operatief verwijderd wordt wegens een *ulcus pepticum ventriculi* of een maagcarcinoom, vaak duidelijke histologische afwijkingen. In mindere mate geldt dit ook voor magen, die wegens een *ulcus pepticum duodeni* worden verwijderd. Hier is de abnormale functie van de maag (te sterke zoutzuur secretie) de indicatie tot de maagresectie. Deze operatiepreparaten zijn dus ook niet ideaal voor een dergelijk onderzoek, al komen er in deze preparaten grote gebieden voor, die morfologisch geen afwijkingen tonen en mogelijk ook histochemisch normaal zouden kunnen zijn. Zonder nader onderzoek kan men dit echter niet voetstoots aannemen, aangezien vast staat, dat in al deze gevallen de functie van de maag gestoord kan zijn.

Enkele maagresectiepreparaten, waarvan ik aanneem, dat zowel het morfologische als het histochemische beeld als normaal mag worden beschouwd, zijn die van patiënten, die geopereerd werden wegens een carcinoom van de papil van Vater. Hier werd bij de operatie volgens Whipple ook een belangrijk deel van de maag geresecteerd; bij deze operatie geschiedt dit niet, zoals bij de maagresectie bij het *ulcus pepticum duodeni*, wegens abnormale functie van de maag. De bevindingen in deze maagresectiepreparaten zullen dan ook als normaal beschouwd worden, terwijl de morfologisch normale gebieden in de overige resectiepreparaten aan deze norm getoetst zullen worden. Over perorale gastrobiopsiën van mensen zonder maagklachten had ik voor dit onderzoek niet de beschikking.

Morfologie

Macroscopisch onderscheidt men aan de maag verschillende gebieden: de fundus, het corpus en het antrum. Onder de fundus verstaat men het gebied van de maag, dat gelegen is boven een transversaal vlak door de overgang maag-slokdarm. De grens tussen corpus en antrum ligt bij de *incisura angularis*. Deze indeling in drie gebieden komt niet overeen met

de verschillen in slijmvlies-opbouw, die bij microscopisch onderzoek worden gevonden. Direct onder de overgang van het plaveiselepitheel van de slokdarm naar het cilindrische epitheel van de maag, liggen onder het oppervlakte-epitheel de zogenaamde cardiaklieren. Dit gebied heet de cardia en komt niet overeen met de fundus. In het gebied van de fundus en het corpus worden in het slijmvlies vele hoofdcellen, dekcellen en mucoïde nevencellen gevonden, terwijl in het gebied voor de pylorus klieren voorkomen, die enige overeenkomst in structuur vertonen met de cardiaklieren; bovendien worden hier verspreid enkele dekcellen gevonden. De grens tussen deze slijmvliesgebieden, die verder corpus- en praepylorisch slijmvlies genoemd zullen worden, komt niet overeen met de macroscopisch gevonden grens tussen corpus en antrum. Deze slijmvliesgrens wisselt enigszins, doch meestal wordt langs de kleine curvatuur ook boven de incisura angularis nog praepylorisch slijmvlies gevonden; langs de grote curvatuur ligt de grens meestal dicht bij de pylorus (BERGEN 1934). In deze studie zal dus onder antrum het macroscopisch door de incisura angularis en pylorus begrensde gebied worden verstaan, terwijl microscopisch over praepylorisch slijmvlies gesproken zal worden, zijnde het gebied, waarin de praepylorische klieren voorkomen. Het macroscopische begrip corpus (het gebied tussen fundus en incisura angularis) komt ook niet overeen met het microscopische begrip corpus (het gebied, waar de klierbuizen mucoïde nevencellen, dekcellen en hoofdcellen bevatten).

De maagwand is in alle gebieden opgebouwd uit drie lagen: mucosa (inclusief muscularis mucosae), submucosa en muscularis. De mucosa heeft fijn reticulair stroma, waarin, ook onder normale omstandigheden, talrijke lymfocyten en plasmacellen worden gevonden. Mestcellen zijn hier slechts schaars aanwezig (SIURALA en SUNDBERG 1958). Macrofagen worden in grotere aantallen gevonden.

Het oppervlakte-epitheel vertoont in de normale maag overal dezelfde bouw en bestaat uit een enkele laag slijmnapcellen: zeer regelmatige, hoogcilindrische cellen met basaal gelegen ronde of ovale kernen en bleek eosinofiel cytoplasma. In het boven de kern gelegen cytoplasma worden in de haematoxyline-eosine kleuring vele kleine, bleek eosinofiele granulae gevonden. De cellen zijn, in het lichtmicroscop bezien, onscherp begrensd ten opzichte van het lumen. Bekercellen komen in het normale oppervlakte-epitheel niet voor. De slijmnapcellen bekleden zowel de foveolae als de interfoveolaire oppervlakten.

De cardiaklieren zijn vertakte tubuleuze klieren. De bekledende cellen hebben een bleek en helder cytoplasma; de kernen liggen plat tegen de basis van de cellen. Dekcellen worden soms ook in deze klieren gevonden (MAXIMOV en BLOOM 1948).

De klierbuizen van het corpus van de maag monden in de bodem der foveolae uit en zijn in het direct onder de foveolae gelegen gebied bekleed

met mucoïde nevencellen en dekcellen. In het basale deel van de klierbuisen worden dekcellen en hoofdcellen gevonden, waarbij opvalt, dat de dekcellen hier aan de buitenzijde liggen van de buisjes. De mucoïde nevencellen (ook wel halshoofdcellen genoemd; mucous neck cells, Nebenzellen) vertonen histologisch overeenkomst met de slijmnapcellen van het oppervlakte-epitheel: de kern ligt ook hier basaal, doch is vaak wat onregelmatig van vorm. Deze cellen zijn veel kleiner dan de dekcellen en maken soms de indruk door dezen samengedrukt te worden. In de mucoïde nevencellen worden regelmatig mitosen gevonden (STÖHR, VON MÖLLENDORF en GOERTTLER 1955). De dekcellen (wandcellen, parietal cells, Belegzellen) zijn vooral in de basale delen, waar zij verspreid tussen de hoofdcellen liggen, vaak wigvormig en hebben veel, sterk eosinofiel cytoplasma. De kern is ongeveer rond en ligt centraal in de cel. Soms komen meerkernige dekcellen voor. De hoofdcellen (lichaamshoofdcellen, chieff cells, zymogenic cells, Hauptzellen) komen alleen in het onderste derde deel van het slijmvlies voor, waar zij de meerderheid der cellen vormen. Het cytoplasma is duidelijk basofiel, de kernen zijn rond of ovaal.

De klierbuisen van het praepylorische slijmvlies bestaan uit een halsgedeelte en een dieper gelegen klierlichaam. Het halsgedeelte is onvertakt en bekleed met cilindrische cellen, die enige overeenkomst tonen met de slijmnapcellen van het oppervlakte-epitheel, doch meestal wat kleiner zijn. In de dieper gelegen lagen vertakken de klierbuisen zich en zijn bekleed met grotere cellen met ijl cytoplasma en basaal gelegen, wat afgeplatte kernen.

Argentaffiene cellen komen in een normale maag regelmatig voor (SHARPLES 1945). Zij zijn in de haematoxyline-eosine kleuring herkenbaar aan hun kleine donkere kern en hun ligging aan de buitenzijde van de klierbuisen. De argentaffiene cellen komen vooral voor in het corpus slijmvlies, in mindere mate ook in het praepylorische slijmvlies. De muscularis mucosae bestaat uit enkele lagen glad spierweefsel.

De submucosa bestaat uit bindweefsel, waarin vetcellen, talrijke mestcellen, macrofagen en eosinofiele leucocyten voorkomen (RÄSÄNEN 1958). In dit bindweefsel worden vele bloed- en lymfvaten gevonden en ganglioncellen en zenuwtakjes: de plexus submucosus van Meissner.

De muscularis bestaat uit twee of drie, in verschillende richtingen verlopende gladde spierlagen, waartussen de plexus myentericus van Auerbach wordt gevonden. Aan de buitenzijde is de muscularis bedekt door de serosa, bestaande uit enig losmazig bindweefsel en een laag mesotheelcellen.

Wegens hun morfologische gelijkenis met de praepylorische klieren werden ook de klieren van Brunner in het onderzoek betrokken. Deze klieren zijn deels in de mucosa, deels in de submucosa gelegen en doorbreken daarbij op vele plaatsen de muscularis mucosae.

Deze samengestelde tubuleuze klieren zijn opgebouwd uit cellen met helder, bleek cytoplasma en basaal platgedrukte kernen.

Tevens werd het normale oppervlakte-epitheel van het duodenum onderzocht.

Enzymkleuringen

De resultaten van het histochemisch enzymonderzoek worden hier slechts in het kort besproken. Voor een meer gedetailleerde beschrijving zij verwezen naar aanhangsel I. In tabel I (blz. 20) zijn de resultaten samengevat.

Alkalische fosfatase wordt nergens in het epitheel of de klieren van de normale maag gevonden (fig. 1). Alleen de endotheelcellen van de capillairen zijn duidelijk positief. In het duodenum daarentegen wordt een hoge activiteit gevonden langs de apicale rand van de oppervlakte-epitheelcellen en in het Golgi-systeem van deze cellen.

Zure fosfatase wordt in vrijwel alle epitheelcellen gevonden, doch de activiteit is verreweg het hoogst in de hoofdcellen (fig. 2). In de dekcellen is geen enzymactiviteit aantoonbaar. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum toont een veel hogere activiteit dan dat van de maag.

5-Nucleotidase wordt vrijwel niet in de epitheelcellen van de maag gevonden, het stroma toont echter wel een duidelijke activiteit. In het duodenum wordt een hoge activiteit in het gebied van de borstelzoom gevonden.

Adenosinetrifosfatase toont een opvallende localisatie (fig. 3): de dekcellen zijn positief, de andere epitheelcellen overal negatief, terwijl het stroma op vele plaatsen enzymactiviteit toont. In het duodenum is de borstelzoom sterk positief. De activiteit in de dekcellen is zonder voorafgaande fixatie hoger dan na fixatie in formaline of aceton. In sommige gevallen was zelfs geen enzymactiviteit aantoonbaar in de dekcellen na formalinefixatie, terwijl de enzymactiviteit in de andere localisaties niet duidelijk verminderd was.

Niet-specifieke esterase, bepaald met de α -naphthylacetaatmethode (fig. 4) en de broomindoxylacetaatmethode (fig. 5) wordt in vrijwel alle epitheelcellen gevonden, zij het in wisselende mate. De activiteit is in de dekcellen meestal hoger dan in de hoofdcellen. Met de α -naphthylacetaatmethode wordt echter soms in de dekcellen geen activiteit gevonden. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum toont met beide methoden een hoge activiteit.

Leucine aminopeptidase wordt in het normale maagslijmvlies nergens gevonden (fig. 10), terwijl in het duodenum de borstelzoom een zeer hoge activiteit toont. De dekcellen kleuren bleek-oranje met deze techniek; in de controle-coupes (geïnactiveerd door koken) is echter dezelfde tint waarneembaar.

Barnsteenzuurdehydrogenase wordt in alle epitheelcellen gevonden, doch de dekcellen tonen een zeer hoge activiteit (fig. 6). Het oppervlakte-

epitheel van het duodenum toont een hoge activiteit in het apicale deel van het cytoplasma.

Melkzuurdehydrogenase (fig. 7), DPNH-diaforase, β -hydroxyboterzuurdehydrogenase (fig. 8), isocitroenzuurdehydrogenase en glucose 6-fosfaatdehydrogenase (fig. 9) tonen een beeld, dat vrijwel overeenkomt met dat van barnsteenzuurdehydrogenase. Als verschilpunten zij hier alleen genoemd de hogere activiteit van melkzuurdehydrogenase in de hoofdcellen en de lagere activiteit van isocitroenzuurdehydrogenase, die zelfs in de hoofdcellen niet aantoonbaar is.

Slijmkleuringen

Ook hiervan worden de resultaten slechts in het kort besproken. Voor een gedetailleerde beschrijving zij verwezen naar aanhangsel I.

In de P.A.S.-kleuring is het oppervlakte-epitheel van de maag sterk positief, evenals de cardiaklieren en de klieren van Brunner. De mucoide nevencellen en de praepylorische klieren zijn minder sterk, doch toch nog duidelijk positief. De hoofdcellen, dekcellen en argentaaffiene cellen zijn negatief. In het oppervlakte-epitheel van het duodenum zijn de borstelzoom en de bekerzellen positief.

De P.A.S.-kleuring na voorbehandeling met diastase toont hetzelfde beeld, terwijl na voorbehandeling met natronloog een intensievere kleuring optreedt, vooral van de mucoide nevencellen en de praepylorische klieren. Wordt inplaats van perijoodzuur gebruik gemaakt van chroomzuur als oxydatiemiddel, dan is het beeld overeenkomstig doch veel zwakker. Als kaliumpermanganaat gebruikt wordt, ontstaat een weinig fraai beeld zonder duidelijke contrasten. De perijoodzuurmethenaminezilverkleuring geeft eveneens een dergelijk beeld als de P.A.S.-kleuring, doch veel zwakker, terwijl hier bovendien de argentaaffiene cellen sterk positief zijn. In de als controle gebruikte methenaminezilverkleuring zonder voorafgaande perijoodzuurbehandeling worden alleen de argentaaffiene cellen gekleurd. Ook de Azankleuring geeft een beeld, dat in grote trekken met de P.A.S.-kleuring overeenkomt, doch veel zwakker is.

Een geheel ander beeld wordt gevonden in de alcian blue en astrablauw kleuringen. Hier zijn slechts de cardiaklieren in de maag zwak positief en is de rest van het maagepitheel negatief. De borstelzoom en de bekerzellen in het duodenum zijn eveneens positief. Mucikarmijn geeft een overeenkomstig beeld. De colloidaal ijzerkleuring toont een dergelijk beeld, alleen zijn hier bovendien de mucoide nevencellen, de praepylorische klieren en de klieren van Brunner zwak positief. Metachromasie met toluidineblauw en thionine wordt in de epitheelcellen van de maag niet gevonden, wel in het duodenum. Opvallend is dat de hoofdcellen zich met thionine intensief blauw kleuren. Mucihaemateïne toont een soortgelijke verdeling als toluidineblauw. In de aldehydfuchsinekleuring zijn de hoofdcellen zwak

positief terwijl de andere epitheelcellen in maag en duodenum negatief zijn.

Voor de verschillende combinaties van P.A.S.- en astrablaukleuring zij verwezen naar aanhangsel I.

TABEL I.

Resultaten van histochemisch onderzoek van normaal maag- en duodenumslimvlies.

	MAAG						DUODENUM	
	cardia kl.	opp. ep.	muc. n.c.	hoofd-c.	dek-c.	praep. kl.	opp. ep.	Brunner
Alk. f.	—	—	—	—	—	—	+	—
Zure f.	+	±	±	++	—	+	++	++
5-N.	±	—	—	—	—	±	++	+
A.T.P.	—	—	—	—	+	—	++	—
est. α	±	+	±	+	+	±	++	±
est. ind.	±	+	±	+	+	±	++	+
L.A.P.	—	—	—	—	—	—	++	—
Barnst.	±	±	±	±	++	+	+	±
Melkz.	+	±	±	+	++	+	+	+
Boterz.	±	±	±	±	++	±	++	+
Citr. z.	±	±	±	±	+	±	++	±
Gl.6.f.	±	+	±	±	+	±	++	±
P.A.S.	++	++	+	—	—	+	+	++
astrabl.	±	—	—	—	—	—	+	—
coll.Fe.	L+	—	+	—	—	±	+	L+

— = negatief

± = zwak positief

± = positief

++ = sterk positief

L+ = lokaal positief

MAAG

cardiaklieren

oppervlakte-epitheel

mucoide nevensellen

hoofdcellen

dekcellen

praepylorische klieren

DUODENUM

Oppervlakte-epitheel

klieren van Brunner

Alkalische fosfatase

zure fosfatase

5-nucleotidase

adenosinetriphosfatase

esterase (α -naphthylacetaat)

esterase (broomindoxylacetaat)

esterase (naphthol A S-D acetaat)

leucine aminopeptidase

barnsteenzuurdehydrogenase

melkzuurdehydrogenase

β -hydroxyboterzuurdehydrogenase

isocitroenzuurdehydrogenase

glucose 6-fosfaatdehydrogenase

P.A.S.

astrablau

colloidaalijzerkleuring

Beschouwingen

In de literatuur worden slechts weinig publicaties gevonden over de resultaten van histochemische enzymkleuringen en slijmkleuringen in de normale maag.

GOMORI (1939) vond geen alkalische fosfatase activiteit in het maagslijmvlies, behalve in de capillairen.

Dit is door anderen (o.a. FODDEN 1953, MADDEN e.a. 1957 en WILLIGHAGEN 1960) bevestigd en komt overeen met de resultaten van mijn onderzoek. Anderen vonden plaatselijk in het epitheel activiteit; voor een nadere beschouwing hierover zij verwezen naar hoofdstuk IV. In het epitheel van de dunne darm vond GOMORI (1939) een duidelijke activiteit langs de apicale celrand en in het Golgi-systeem.

Zure fosfatase werd door GOMORI (1941) in alle epitheelcellen van het maagslijmvlies gevonden, het minst in de dekcellen. Anderen echter (SELIGMAN (aangehaald door GOMORI 1952—53) RUTENBURG e.a. 1958 en ROSEMAN e.a. 1959) vermelden, dat de zure fosfatase activiteit in dekcellen juist hoger is dan in de andere cellen. Bij mijn onderzoek vond ik geen duidelijke activiteit in de dekcellen en een hoge activiteit in de hoofdcellen. Een afdoende verklaring voor deze discrepanties kan ik niet geven; mogelijk speelt het gebruik van verschillende technieken een rol, anderzijds kan hier ook sprake zijn van verschillende functietoestanden van de dekcellen. MENZIES (1952) stelde bij ratten vast dat zure fosfatase in de dekcellen alleen gevonden wordt in een bepaald stadium, n.l. op het moment, dat de cellen hun lipinecomponent verliezen. Hij veronderstelt, dat zure fosfatase de hydrolyse van fosfolipine zou veroorzaken. Door de aard van het onderzochte materiaal (operatiepreparaten) is het niet mogelijk om na te gaan of dit gegeven een verklaring kan bieden voor de discrepantie tussen de door verschillende onderzoekers gevonden beelden.

Over 5-nucleotidase en adenosinetrifosfatase activiteit in het menselijk maagslijmvlies vond ik nergens in de literatuur iets vermeld. Wat het epitheel betreft, is het beeld van de 5-nucleotidasekleuring vrijwel identiek met dat van de alkalische fosfatasekleuring. De activiteit van adenosinetrifosfatase in de dekcellen wordt door voorafgaande fixatie in formaline geremd, terwijl de activiteit in de andere structuren (o.a. bloedvaten) niet duidelijk wordt beïnvloed. Dit zou er op kunnen wijzen, dat hier sprake is van twee verschillende enzymen. Meer dan een suggestie is dit echter niet. WACHSTEIN e.a. (1961) vonden een remming van de enzymactiviteit in mitochondriën door formaline, indien de techniek van WACHSTEIN e.a. (1957) werd gebruikt. Bij de techniek van PADYKULA e.a. (1955) werd deze remming niet gevonden. Ook dit zou kunnen wijzen op de aanwezigheid van twee verschillende enzymen. Een nader onderzoek in deze richting werd door mij niet verricht.

De verschillen in localisatie van niet-specifieke esterase bij het gebruik van verschillende substraten werden reeds door GOMORI (1950) besproken. Hij vond met α -naphthylacetaat als substraat geen activiteit in de dekcellen, terwijl met de oorspronkelijke methode (NACHLAS en SELIGMAN 1948—49), waarbij β -naphthylacetaat als substraat gebruikt werd,

deze cellen duidelijk positief waren. Met de beide door mij gebruikte methoden vind ik steeds een duidelijke activiteit in de dekcellen, al wisselt de intensiteit van de kleuring, speciaal wanneer deze vergeleken wordt met die in de hoofdcellen. Meestal echter zijn de dekcellen sterker positief dan de andere epitheelcellen.

Leucine aminopeptidase werd door WATTENBERG (1959) nergens in het normale maagslijmvlies gevonden, doch wel langs de apicale rand van het oppervlakte-epitheel van de dunne darm. Dit komt geheel overeen met mijn resultaten. De bleke oranje tint van de dekcellen, die ook in de controle coupes wordt gevonden, wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een specifieke adsorptie van een der gebruikte kleurstoffen.

Barnsteenzuurdehydrogenase is door verschillende onderzoekers in hoge activiteit in de dekcellen gevonden, o.a. door PADYKULA (1952) bij de rat, VILLARREAL en BURGOS (1955) bij de rat en de kikker en NIEMIE e.a. (1960) bij de mens. De andere epitheelcellen zijn volgens de laatste auteurs slechts zeer zwak positief of zelfs negatief. Hetzelfde beeld werd door hen ook gevonden voor de DPNH-diaforase en melkzuurdehydrogenase activiteit. Deze resultaten zijn geheel in overeenstemming met die van mijn onderzoek. VOLLRATH (1959) vond eveneens een hoge barnsteenzuurdehydrogenase activiteit in de dekcellen bij de mens en vele diersoorten. Dit enzym zou een belangrijke rol spelen bij de energievoorziening van de dekcellen, die voor de productie van zoutzuur grote hoeveelheden energie nodig hebben. Dat ook de andere door mij onderzochte dehydrogenasen in hoge activiteit in de dekcellen aanwezig zijn, staat waarschijnlijk ook met de energieproductie in verband. Het koolzuuranhydrase, dat bij de zoutzuurproductie door de dekcellen een belangrijke rol zou spelen (zie o.a. VOLLRATH 1959) werd niet door mij onderzocht. De specificiteit van de histochemische bepaling staat overigens nog niet geheel vast.

Welke conclusies kunnen er getrokken worden uit het histochemisch al of niet aantoonbaar zijn van bepaalde enzymen in bepaalde cellen? Aangezien het feit, dat een enzym in een celsoort langs histochemische weg niet aantoonbaar is, niet impliceert, dat dit enzym dan ook niet aanwezig is in die celsoort, kan uit de negatieve histochemische bevindingen niets geconcludeerd worden over het al of niet aanwezig zijn van bepaalde enzymen. De hoge activiteit van bepaalde enzymen kan echter wel aanwijzingen geven; zo kan de sterke activiteit van adenosinetrifosfatase, barnsteenzuurdehydrogenase en verschillende andere dehydrogenasen in de dekcellen, in verband gebracht worden met de grote hoeveelheid energie, die deze cellen bij de zuurproductie nodig hebben (VOLLRATH 1959). Anderzijds kan de hoge activiteit van barnsteenzuurdehydrogenase in de dekcellen een belangrijk hulpmiddel zijn bij de bestudering van de verbreiding en de ligging van deze cellen; hierbij doet het enzym dus dienst als een vrij specifieke indicator, aangezien de activiteit in de andere cellen van het maagslijmvlies veel lager is.

Het is duidelijk, dat enzymen, die in meerdere celsoorten in ongeveer gelijke hoeveelheden voorkomen (zure fosfatase, niet-specifieke esterase) voor dit doel ongeschikt zijn. Vermeld dient nog te worden, dat binnen een bepaalde celsoort geen duidelijke verschillen in enzymactiviteit werden gevonden. Door de aard van het materiaal (operatiepreparaten van patiënten, die een vrijwel gelijke praeparaatieve voorbereidingsperiode doormaakten) was het helaas niet mogelijk om het enzympatroon van maagslijmvliezen in verschillende fasen van secretoire activiteit te onderzoeken.

De slijmkleuringen kunnen op grond van de boven vermelde resultaten in enkele groepen worden verdeeld, waarvan respectievelijk de P.A.S. kleuring, de astrablauwkleuring, de colloidaalijzerkleuring en de toluidineblauwkleuring typische vertegenwoordigers zijn. De laatste drie tonen slechts geringe onderlinge verschillen. Met de P.A.S. kleuring wordt zowel het echte mucine als het mucoid gekleurd, het laatste echter veel intensiever; met de andere groepen van technieken wordt echter slechts het mucine gekleurd en blijft het mucoid negatief (vergelijk GOMORI 1952/53 en hoofdstuk II, p. 11). Er is dus een redelijke mate van overeenstemming tussen de resultaten met de oude empirische en de moderne histochemische methoden. Aangezien de verschillen tussen de resultaten van de astrablauw-groep en de toluidineblauw-groep slechts gering zijn, werd voor het verdere onderzoek (zie o.a. hoofdstuk VI) alleen gebruik gemaakt van de P.A.S.-, astrablauw- en colloidaalijzerkleuring.

Het oppervlakte-epitheel van de maag, dat slechts met de P.A.S. kleuring fraai positief kleurt, komt histochemisch, ook wat de enzymen betreft, vrijwel overeen met de mucoide nevcellen. Er zijn slechts enkele kwantitatieve verschillen (o.a. de P.A.S. kleuring). De dekcellen en de hoofdcellen zijn niet alleen morfologisch doch ook histochemisch scherp omschreven groepen, die geen duidelijke gelijkenis tonen met elkaar of met andere celsoorten.

Iets anders ligt de zaak met de cardiaklieren, de praepylorische klieren en de klieren van Brunner. Morfologisch tonen deze drie celsoorten een duidelijke gelijkenis. PASCHKIS en ORATOR (1923) meenden geen principieel verschil te moeten maken tussen deze celsoorten. Histochemisch zijn er echter enkele duidelijke, zij het kwantitatieve verschillen: in de klieren van Brunner is de activiteit van zure fosfatase duidelijk hoger dan in de beide andere klierensoorten. Ook de 5-nucleotidase activiteit is in de klieren van Brunner wat hoger, mogelijk ook de activiteit van niet-specifieke esterase en enkele dehydrogenasen. In de P.A.S. kleuring zijn de praepylorische klieren minder intensief gekleurd dan de cardiaklieren of de klieren van Brunner. In de astrablauw-kleuring zijn de cardiaklieren plaatselijk zwak positief, de beide andere klierensoorten geheel negatief. In de colloidaalijzerkleuring zijn de klieren van Brunner sterker positief dan de praepylorische klieren.

Ondanks deze weliswaar talrijke, doch vrijwel uitsluitend quantitatieve verschillen tonen deze drie soorten klieren zeer duidelijke punten van overeenkomst. Ook het histochemisch onderzoek heeft geen principieel verschil tussen deze klieren kunnen aantonen.

In hoeverre de histochemische verschillen verband houden met de localisatie van de klieren, valt uit dit onderzoek niet op te maken.

Op de zeer duidelijke en principiële histochemische verschillen tussen het oppervlakte-epitheel van de maag en dat van het duodenum zal in hoofdstuk IX nog worden teruggekomen.

HOOFDSTUK IV

SLIJMVLIESMETAPLASIE IN DE MAAG

(intestinale en praepylorische metaplasie)

In de tijd, dat de maagchirurgie nog in de kinderschoenen stond en er alleen nog maar gastro-enterostomieën aangelegd werden, gebeurde het, dat een chirurg het verzoek kreeg van een anatoom om een klein stukje van de maag af te snijden alvorens deze in de darm te hechten. De chirurg voldeed aan dit verzoek en de anatoom vertrok opgewekt met het weefselstukje naar zijn laboratorium om daar het maagslijmvlies nu eens in geheel verse toestand te kunnen bestuderen. Niet zodra echter had hij de coupes van het weefsel microscopisch onderzocht of hij ontstak in woede op de betrokken chirurg, ging naar deze toe en verweet hem, dat hij hem bedrogen had door een stukje darm te geven in plaats van het stukje maag, waar hij om gevraagd had. Deze anecdote is waarschijnlijk een van de eerste vermeldingen van de intestinale metaplasie van het maagslijmvlies. Reeds toen veroorzaakte dit beeld blijkbaar moeilijkheden.

Onder intestinale metaplasie verstaat men het voorkomen in de maag van op darmepitheel gelijkende structuren. Dit epitheel is hoogcilindrisch en heeft een eosinofiel cytoplasma, dat aan de apicale zijde scherp begrensd is door de borstelzoom en een basaal gelegen kern heeft (fig. 11 en 15). Verspreid komen tussen deze epitheelcellen bekercellen voor, terwijl in de diepten van de crypten cellen van Paneth en argentaffine cellen (fig. 12) worden gevonden. Dit epitheel bekleedt soms vlokken, die dan niet te onderscheiden zijn van de villi van de dunne darm. Onder dit epitheel worden geen hoofdcellen, dekcellen of praepylorische klieren gevonden. Wel komen deze soms in de directe omgeving voor, maar zijn dan steeds bedekt met normaal oppervlakte-epitheel. Intestinale metaplasie kan het hele slijmvlies betreffen, waarbij dit veranderd is in een structuur, die niet van het slijmvlies van de dunne darm te onderscheiden is. Daarnaast komen zeer vaak kleine eilandjes metaplasie voor, die geen duidelijke vlokken hebben en soms slechts een enkele bekercel; deze eilandjes doen weliswaar denken aan het epitheel van de dunne darm, doch zijn daar morfologisch niet identiek mee. MICHALANY (1956, 1959) noemt deze beide vormen respectievelijk de organoïde en de histioïde vorm. Bovendien maakt deze onderzoeker onderscheid tussen een niet-segmentaal type, dat zeer frequent zou zijn, een dunne darmtipe en een dikke darmtipe. Beide laatste typen zouden zeldzaam zijn. Het dikke darmtipe, waarin zeer vele bekercellen voorkomen, heb ik in mijn materiaal nergens gevon-

den; het dunne darmtype zag ik daarentegen zeer regelmatig, terwijl het mij vaak niet mogelijk was om te differentiëren tussen het niet-segmentale type en het dunne darmtype. Bij de bespreking van de resultaten van het histochemisch onderzoek zal dit nog nader ter sprake komen.

Talrijke auteurs vermelden kortweg, dat intestinale metaplasie identiek is met dunne darmepitheel (AREY e.a. 1950, HEINKEL 1959) of het meest lijkt op dikke darmepitheel (MORSON 1955, SCHEIDEGGER 1959).

Algemeen wordt KUPFFER (1883) beschouwd als de eerste onderzoeker, die intestinale metaplasie heeft beschreven. Hij meende, dat de bekerellen en de cilindrische cellen met borstelzoom, die hij in zijn preparaten aantrof, tot de normale structuur van de maag behoorden. Zelfs meende hij, dat iedere maagepitheelcel in een bekerel kon veranderen. SCHMIDT beschreef echter in 1896, dat darmepitheel in een normale maag vrijwel niet voorkomt, doch zeer vaak gevonden wordt bij chronische ontsteking van het maagslijmvlies. Latere onderzoekers (o.a. MOSZKOWICZ 1923, MAGNUS 1937) bevestigden dit. Thans zijn de meeste onderzoekers het er wel over eens, dat intestinale metaplasie bij pasgeborenen niet voorkomt, met de leeftijd toeneemt en vooral wordt gevonden bij chronische gastritis, ulcus pepticum en carcinoom (DEELMAN 1920, GEISSENDÖRFER 1928, GUISS en STEWART 1943). De frequentie wordt door verschillende onderzoekers geheel verschillend opgegeven: MAGNUS (1937) geeft een literatuuroverzicht, waarbij de percentages wisselen van 11% tot 100%.

MORSON vond in 1956 in het maagslijmvlies bij maagcarcinoom in 92% van de gevallen eilandjes intestinale metaplasie, bij ulcus ventriculi in 82% en bij ulcus duodeni in 62%. VAN KERKWIJK vond in 1938 iets lagere waarden. SIURALA (1956) vond in het maagslijmvlies bij ulcus pepticum in 30% intestinale metaplasie en bij patiënten met pernicieuze anaemie in 83%. HENNING (1959) vond in maagbiopsieën in 85% van de gevallen met atrofie van het slijmvlies deze „Becherzellen Metaplasie”. WYNN WILLIAMS e.a. (1958) vonden in biopsiemateriaal van 44 patiënten met pernicieuze anaemie 35 × intestinale metaplasie. Een veel lagere waarde vonden SOMMERS e.a. (1958), die bij 168 patiënten met maagcarcinoom slechts in 24% van de gevallen intestinale metaplasie aantroffen. Deze getallen zijn onderling echter niet goed vergelijkbaar, omdat het onderzochte materiaal en de gebruikte technieken te sterk wisselen. Een schatting van de frequentie van deze metaplasie valt buiten het kader van dit proefschrift; aangenomen mag echter wel worden, dat in het slijmvlies van operatief verwijderde stukken maag (en op dit materiaal heeft ons onderzoek betrekking) in de meeste gevallen intestinale metaplasie gevonden zal worden.

De meeste auteurs (o.a. MOSZKOWICZ 1923, MAGNUS 1937, SCHINDLER 1947, MICHALANY 1956, 1959) zijn het er over eens, dat intestinale metaplasie een gevolg is van regeneratie, die plaats zou vinden vanuit de diep in de foveolae gelegen epitheelcellen; dit zijn ook de enige epitheelcellen

in een normale maag, waarin regelmatig mitosen gezien worden (SCHINDLER 1947, JAMES 1957). Deze regeneratie kan optreden na een verwoesting van het slijmvlies door een ontstekingsproces, hetzij een acute of een chronische gastritis, hetzij een gastritis bij een ulcus of carcinoom. Volgens SCHINDLER (1947) echter zou deze regeneratie in metaplastische richting plaats kunnen vinden voor de klieren verwoest zijn. Intestinale metaplasie zou dus een voorbeeld zijn van een indirecte metaplasie. Een andere mening is SCHEIDEGGER (1959) toegedaan; hij meent, dat nog niet beslist is of intestinale metaplasie een echte metaplasie of een dystopie is. Hij oppert, dat hier eerder sprake is van transformatie dan van metaplasie.

Behalve in het maagslijmvlies wordt intestinale metaplasie ook in poliepen gevonden (JÄRVI en LAURÉN 1951, MORSON 1955, BERG 1958).

Van alle in dit onderzoek onderzochte enzymen wordt een duidelijke activiteit gevonden in intestinale metaplasie. Alkalische en zure fosfatase, 5-nucleotidase, adenosinetrifosfatase en leucine aminopeptidase activiteit zijn gelocaliseerd in het gebied van de borstelzoom (fig. 16, 17, 18 en 22). In de coupes is dit te zien als een scherpe lijn langs de apicale celrand. De activiteit van deze enzymen is hier hoog tot zeer hoog. Alkalische fosfatase activiteit wordt bovendien vaak, doch niet altijd, gevonden in het Golgi-systeem, ongeveer halverwege tussen de borstelzoom en de kern. Deze activiteit is lager dan die in de borstelzoom. In de rest van het cytoplasma zijn de bovengenoemde enzymen histochemisch niet aantoonbaar.

Niet-specifieke esterase, bepaald met beide methoden, en de dehydrogenasen (barnsteenzuur-, melkzuur-, β -hydroxyboterzuur-, isocitroenzuur- en glucose 6-fosfaatdehydrogenase) worden in het hele cytoplasma gevonden, waarbij de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma duidelijk hoger is, dan in de rest van het cytoplasma (fig. 19, 20 en 21). Een voorkeur voor het gebied van de borstelzoom is hier echter niet aanwezig. Het slijm in de beercellen is in alle enzymkleuringen als een uitsparing te zien; enzymactiviteit is hierin dus niet aantoonbaar.

De cellen van Paneth en de argentaaffiene cellen vallen in geen van de enzymkleuringen op. Het cytoplasma van deze cellen toont niet-specifieke esterase activiteit, terwijl ook alle dehydrogenasen hierin aanwezig zijn. De andere enzymen zijn in deze cellen niet duidelijk aangetoond. Een enzympatroon, dat lijkt op dat van dikke darmepitheel (alkalische fosfatase, 5-nucleotidase en leucine aminopeptidase plaatselijk zwak positief langs de apicale celrand, adenosinetrifosfatase vrijwel overal zwak positief langs de apicale celrand en zure fosfatase, niet-specifieke esterase en de dehydrogenasen diffuus positief in het cytoplasma) wordt in het onderzochte materiaal nergens gevonden. Dit is in overeenstemming met het feit, dat bij het histologisch onderzoek ook nergens intestinale metaplasie van het dikke darmtype werd gevonden.

In de slijmkleuringen (P.A.S.- (fig. 13), astrablau- (fig. 14) en colloi-

daal ijzerkleuring) zijn de borstelzoom en de bekerzellen duidelijk en vaak sterk positief. Het cytoplasma van de overige cellen is in deze kleuringen geheel negatief.

In de literatuur zijn slechts weinig publicaties te vinden over de enzym-histochemie van intestinale metaplasie (PLANTEYDT en WILLIGHAGEN 1960).

GOMORI (1939) vond geen alkalische fosfatase activiteit in het maagslijmvlies, behalve in de capillairen. MANHEIMER en SELIGMAN (1948/49) vonden echter eilandjes alkalische fosfatase positieve cellen in het oppervlakte-epitheel en in het distale deel van de foveolae. Op grond van mijn eigen histochemisch onderzoek en de afbeeldingen bij het artikel van Manheimer en Seligman meen ik, dat dit eilandjes intestinale metaplasie geweest zijn. FODDEN (1953) en MADDEN e.a. (1957) vermelden een hoge activiteit in intestinale metaplasie, terwijl zij geen activiteit vonden in het normale oppervlakte-epitheel. Onze bevindingen stemmen hiermee volledig overeen. De activiteit in de borstelzoom en in het Golgi-systeem van de intestinale metaplasie zijn geheel identiek met het beeld van de alkalische fosfatase activiteit in dunne darmepitheel.

Zure fosfatase activiteit werd door GOMORI (1941) op enkele plaatsen in de maag in alle epitheelcellen gevonden. Gomori schrijft verder o.a.: „Moreover in cases of gastric carcinoma the epithelial lining of all glands throughout the entire gastric mucosa was strongly reactive. The reaction was far stronger and more extensive than in the normal stomach”. Mogelijk betreft deze beschrijving een uitgebreide intestinale metaplasie; gedetailleerde gegevens, die hierover meer zekerheid zouden kunnen geven, ontbreken echter in het betreffende artikel.

Leucine aminopeptidase activiteit werd door WATTENBERG (1959) in het normale maagslijmvlies niet gevonden, doch wel langs de apicale rand van het intestinaal metaplastische epitheel. MONIS e.a. (1959) vermelden een hoge activiteit in enkele klierbuizen met bekerzellen in de omgeving van een maagulus. Zij beschouwden dit als een opvallende vondst, daar de naburige klierbuizen geheel negatief waren. FISCHER (1959) vermeldt dat hij enkele eilandjes positieve cellen in het maagslijmvlies vond. Hoewel zowel Monis e.a. als Fischer hun positieve cellen niet nader interpreteren, meen ik, dat het vrijwel zeker is, dat dit eilandjes intestinale metaplasie waren. De hoge aminopeptidase activiteit, die ik in het gebied van de borstelzoom vond, komt geheel overeen met de resultaten van Wattenberg.

Over de aanwezigheid van de andere enzymen in intestinale metaplasie heb ik in de literatuur geen gegevens kunnen vinden.

Het enzympatroon van de intestinale metaplasie is geheel identiek met dat van het dunne darmslijmvlies. Dit laatste werd zowel onderzocht in

het duodenumslimvlies, dat aan de rand van vele maagresectiepreparaten werd gevonden, als in het materiaal, dat door middel van perorale biopsie werd verkregen uit het duodenum, het jejunum en het ileum. Tussen het niet-segmentale type en het dunne darmtype werden histochemisch geen verschillen gevonden, terwijl ook op histologische gronden vaak niet met zekerheid uitgemaakt kon worden of het een niet-segmentaal type of een dunne darmtype betrof. In het onderzochte materiaal werd dus slechts één soort intestinale metaplasie aangetroffen, die histochemisch identiek bleek te zijn met dunne darmslijmvlies.

De intestinale metaplasie en het dunne darmslijmvlies vertonen dus niet alleen een duidelijke morfologische overeenkomst, doch zijn ook histochemisch identiek. Over een functionele activiteit van de intestinale metaplasie is weinig bekend in de literatuur. SCHINDLER stelde in 1947 vast (pag. 135): „The decisive question as to whether or not the intestinal metaplastic mucosa of atrophic gastritis is able to secrete intestinal enzymes has not yet been investigated”. In antwoord hierop meen ik de volgende conclusie te mogen formuleren.

Op grond van de aanwezigheid van talrijke enzymen (o.a. leucine aminopeptidase) in de borstelzoon van de intestinale metaplasie en van het dunne darmepitheel, lijkt het wel waarschijnlijk, dat het intestinaal metaplastische epitheel dezelfde enzymen kan produceren als het dunne darmepitheel. Hoewel dit niet met zekerheid uit dit onderzoek kan worden afgeleid, meen ik, dat wel mag worden aangenomen, dat er ook een functionele identiteit bestaat tussen de intestinale metaplasie en het dunne darmslijmvlies. Het feit, dat er geen enkel histochemisch verschil gevonden wordt, pleit ook sterk in deze richting. Het voorkomen van functionerend (o.a. ook resorberend!) dunne darmslijmvlies in de maag kan een belangrijke invloed hebben op de functie van de maag. Dit zou mogelijk klinisch van belang kunnen zijn. Een uitvoerige bespreking hiervan valt echter buiten het kader van dit proefschrift. De talrijke argentaffiene cellen in de intestinale metaplasie zouden ook een invloed op de functie van de maag kunnen hebben. MICHALANY (1959) heeft hier reeds op gewezen. De door deze cellen geproduceerde serotonine zou een verhoogde peristaltiek kunnen veroorzaken.

Het verband tussen intestinale metaplasie en maagcarcinoom, gezien in het licht van de resultaten van histochemisch onderzoek zal in hoofdstuk IX nog uitvoerig worden besproken.

Naast intestinale metaplasie wordt in het maagslijmvlies nog een andere metaplasie gevonden, de zogenaamde pseudopylorische metaplasie. Hieronder verstaat men het voorkomen van op praepylorische klieren gelijkende buizen in het corpusgebied van de maag. Deze werden voor het eerst beschreven door STOERK (1922), die uitdrukkelijk vermeldt in deze buizen geen dekcellen te hebben waargenomen. Anderen echter (o.a.

SCHINDLER 1947) hebben in deze klierbuizen wel dekcellen gevonden. Over de frequentie van deze metaplasie is weinig bekend; VAN KERKWIJK (1938) vond deze bij *ulcus pepticum* slechts een enkele maal, bij *carcinoom* echter in 9 van de 15 gevallen. SIURALA (1956) geeft aan, dat hij een soortgelijke frequentie vond als van intestinale metaplasie.

Over het ontstaan van pseudopylorische metaplasie is slechts door enkele onderzoekers geschreven. SCHINDLER (1947) meent, dat deze buizen direct uit de klierbuizen van het corpus ontstaan en niet uit de foveolae. MAGNUS (1952) spreekt van een proliferatie van mucoide nevencellen, die tot de vorming van deze pseudopylorische klierbuizen zou leiden. Over een eventueel verband met *carcinoom* heb ik in de literatuur niets kunnen vinden.

De pseudopylorische metaplasie toont klierbuizen, die bekleed zijn met cilindrische cellen met helder cytoplasma en basaal gelegen platte kernen. Deze cellen komen in structuur geheel overeen met die van de praepylorische klierbuizen. De buizen zijn vaak vertakt, terwijl het slijmvlies in deze gebiedjes bekleed is met normaal oppervlakte-epitheel van de maag. Ook als intestinale en pseudopylorische metaplasie vlak naast elkaar gevonden worden, is dit vaak nog fraai te zien.

Over de resultaten van het histochemisch onderzoek van pseudopylorische metaplasie kan ik kort zijn. Het oppervlakte-epitheel toont geheel hetzelfde enzympatroon, als dat van een normale maag, terwijl ook in de slijmkleuringen geen duidelijke verschillen worden gevonden. De klierbuizen toonden geheel hetzelfde patroon als de praepylorische klieren (geen alkalische fosfatase, adenosinetriphosphatase en leucine aminopeptidase activiteit, een zwakke 5-nucleotidase en niet-specifieke esterase activiteit en een duidelijke zure fosfatase activiteit, terwijl de activiteit van de dehydrogenasen in enigszins wisselende mate in beide celsoorten aanwezig is). Dit patroon verschilt van dat van de mucoide nevencellen, doordat deze slechts een zwakke zure fosfatase activiteit vertonen en geen 5-nucleotidase activiteit. Ook wat de slijmkleuringen betreft komt de pseudopylorische metaplasie met de praepylorische klieren overeen.

Er bestaat dus, evenals bij de intestinale metaplasie en het dunne darmslijmvlies, zowel een morfologische als een histochemische overeenkomst tussen de pseudopylorische metaplasie en de praepylorische klieren. Een argument om dit een „pseudo”-pylorische metaplasie te blijven noemen, lijkt mij dan ook niet aanwezig. Praepylorische metaplasie is wellicht daarom een betere naam.

Over de functie van de praepylorische klieren is, behalve de slijmvorming, eigenlijk niets bekend. Omtrent een eventuele functionele betekenis van de praepylorische metaplasie en een invloed op de functie van de maag valt dan ook niets te concluderen.

Of ook de praepylorische metaplasie een rol zou kunnen spelen bij het

ontstaan van maagcarcinoom, gezien in het licht van dit histochemisch onderzoek, zal in hoofdstuk IX besproken worden.

SCHINDLER (1947) onderscheidt naast de beide besproken vormen van metaplasie nog een pseudometaplasie. Hij rekent hiertoe de kubische of platte epitheelcellen, die o.a. in cysten in het maagslijmvlies bij een chronische gastritis gevonden worden. Deze cellen tonen een enzympatroon, dat overeenkomt met dat van het normale oppervlakte-epitheel (zure fosfatase en niet-specifieke esterase duidelijk positief, de dehydrogenasen zwak tot matig positief en de overige enzymen negatief). Soms zijn echter de dehydrogenasen in het normale oppervlakte-epitheel duidelijk hoger.

Behalve de beschreven metaplasieën werden in het maagslijmvlies bij ulcus of carcinoom geen duidelijke afwijkingen gezien in het enzympatroon, vergeleken met dat van de normale maag. Ik had voor dit onderzoek niet de beschikking over maagslijmvlies met een chronische gastritis zonder ulcus pepticum of carcinoom, zodat ik over eventuele histochemische afwijkingen van dergelijk maagslijmvlies, evenals van het slijmvlies bij pernicieuze anaemie, geen gegevens heb kunnen verzamelen.

HOOFDSTUK V

ULCUS PEPTICUM CHRONICUM

Het chronische ulcus pepticum is een rond of ovaal defect van de mucosa, de submucosa en de muscularis. Dit defect wordt opgevuld door granulatieweefsel, dat later in littekenweefsel overgaat. De diverse stadia van dit proces vinden wij terug in de verschillende zones, die in de ulcusbodem te onderscheiden zijn. De bodem is bedekt met fibrineus exsudaat, waarin vele segmentkernige leucocyten. Hieronder ligt een laag necrotisch weefsel met fibrine. De volgende zone bestaat uit granulatieweefsel, waarin vele capillairen, prolifererende fibroblasten, leucocyten en een histiocytair reactie in de vorm van macrofagen worden gevonden. Tenslotte een gebied van fibreus weefsel (littekenweefsel), waarin verspreid wat chronisch ontstekingsinfiltraat (lymfocyten en plasmacellen). In de lang bestaande ulcera wordt veel van dit littekenweefsel gevonden. Dit weefsel vervangt een deel of zelfs de gehele dikte van de muscularis en breidt zich in de submucosa ook in de breedte uit onder het normale slijmvlies.

Reëpithelialisatie van de ulcusbodem vindt plaats vanuit de rand. Het littekenweefsel of granulatieweefsel wordt daarbij bekleed met afgeplat tot kubisch epitheel, waarvan de kernen vaak wat onregelmatig gerangschikt zijn. Dit epitheel vormt soms enkele klierbuizen, doch een regeneratie tot normaal slijmvlies wordt nooit gezien.

Enkele kenmerkende histologische veranderingen werden nog niet genoemd. De muscularis mucosae is in de ulcusbodem onderbroken en eindigt in deze bodem. Daarbij nadert deze spierlaag vaak de muscularis propria; soms lijken deze lagen zelfs in elkaar over te gaan. Reikt het ulcus door de muscularis propria heen, dan wordt dit naar elkaar toe buigen van de spierlagen nog versterkt, doordat nu de stompen van de muscularis in de richting van het lumen ombuigen en vaak in de ulcusbodem eindigen.

De arterietakjes tonen vaak oblitererende veranderingen, terwijl er bovendien in de ulcusbodem vaak een proliferatie van zenuwbundels zonder ganglioncellen plaats vindt. Dit beeld is soms zo sterk, dat het enigszins aan een amputatieneuroom doet denken.

Het carcinoma ex ulcere wordt in hoofdstuk VI besproken; tevens worden daar enkele voorbeelden van beschreven.

Hier beperken wij ons tot het gewone chronische ulcus pepticum; van 12 van deze ulcera werd histochemisch enzymonderzoek verricht. In al deze gevallen werd hetzelfde beeld gevonden; ook de ulcera, waarin een

carcinoom werd gevonden (zie aanhangsel II, patiënten 33, 35, 38 en 43) tonen een overeenkomstig beeld, uitgezonderd het tumorweefsel. Reëpithelialisatie werd in enkele van deze ulcera gezien; het enzympatroon van dit epitheel wordt bij ieder enzym even speciaal genoemd.

Enzymkleuringen

Alkalische fosfatase: De oppervlakkige lagen van de ulcusbodem zijn geheel negatief. De fibroblasten tonen een duidelijke activiteit, waardoor een fraaie positieve zone ontstaat. Ook het endotheel van de capillairen toont een duidelijke activiteit. De uitbreiding van de fibroblastenproliferatie is goed te zien en deze blijkt van geval tot geval te wisselen. De proliferatie breidt zich vaak straalvormig uit, waarbij in de meest perifere gebieden veelal een hoge activiteit aanwezig is. Vooral in de submucosa is dit goed te zien. Opvallend is, dat in enkele gevallen, waarin de muscularis doorbroken is, er een duidelijke activiteit aanwezig is in de stompe einden van deze muscularis, dus juist waar de spierlagen in de fibreuze ulcusbodem eindigen (fig. 23). Deze activiteit lijkt in het spierweefsel zelf gelocaliseerd te zijn en niet in fibroblasten. De reëpithelialiserende cellen tonen geen enzymactiviteit.

Zure fosfatase: Ook hier wordt in de oppervlakkige lagen meestal geen activiteit gevonden; slechts een enkele keer is in het gebied van de necrose plaatselijk enige zwarting opgetreden. De verspreid in de diepere lagen aanwezige macrofagen tonen een hoge activiteit. Deze cellen worden vooral vlak onder het necrotische gebied gevonden.

Overigens toont het bindweefsel van de ulcusbodem slechts een zwakke of zeer zwakke activiteit. De reëpithelialiserende cellen tonen een duidelijke activiteit in het apicale deel van het cytoplasma.

5-Nucleotidase: Het bindweefsel in de ulcusbodem toont een duidelijke activiteit, die in het granulatiweefsel vaak wat hoger is, dan in de rest van de ulcusbodem. Doordat het endotheel van de capillairen een hoge activiteit toont, zijn deze capillairen ook hier (evenals in de alkalische fosfatasekleuring) zeer fraai te zien. De spierlagen tonen een hoge activiteit, waardoor hun verloop gemakkelijk te volgen is. Het naar elkaar toe buigen of zelfs in elkaar overgaan van de muscularis mucosae en de muscularis propria is in deze kleuring goed te demonstren. Het reëpithelialiserende epitheel vertoont geen enzymactiviteit.

Adenosinetrifosfatase: Het bindweefsel in de ulcusbodem toont overal slechts een zwakke activiteit. Een voorkeur voor een bepaalde celsoort wordt hier niet gevonden. Wel zijn de endotheelcellen van de capillairen ook hier duidelijk positief. De oppervlakkige lagen tonen geen enzymactiviteit. Het reëpithelialiserende epitheel is negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): In de bodem van het ulcus komen verspreid positieve cellen voor. Het beeld komt overeen

met dat van de zure fosfatasekleuring, doch is duidelijk zwakker. In enkele gevallen worden deze macrofagen vooral vlak onder de necrose-laag gevonden. In het necrotische weefsel wordt een enkele maal enige zwarting gevonden, meestal echter is de necrose geheel negatief. Het reëpithelialiserende epitheel toont een duidelijke activiteit, die vooral in het apicale deel van het cytoplasma gelocaliseerd is.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): Het beeld komt overeen met dat van de vorige kleuring; de activiteit is echter wat zwakker en het neerslag wat grover. De reëpithelialiserende cellen tonen een wisselende, merendeels echter duidelijke activiteit. De uitbreiding van de reëpithelialisatie is hier fraai te zien, doordat de activiteit in de rest van de ulcusbodem zo zwak is.

Leucine aminopeptidase: Op enkele plaatsen kleurt de necrose zwak positief. Vlak daaronder worden vaak talrijke vezelige cellen met een zwak positief cytoplasma gevonden. Dit zijn fibroblasten; opvallend is echter dat slechts in een smalle zoom tegen het necrotische gebied aan deze positieve fibroblasten worden gevonden. Het beeld komt dan ook niet overeen met dat van de alkalische fosfatasekleuring. In een oblitererend arterieel bloedvat in de bodem van een der ulcera wordt een proliferatie van fibroblasten gevonden, die een duidelijke enzymactiviteit in het cytoplasma tonen (fig. 24). Het overige bindweefsel van de ulcusbodem is negatief. Ook de reëpithelialiserende cellen zijn negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: De oppervlakkige lagen van de ulcusbodem zijn negatief. In de andere zones van de bodem wordt slechts een zeer zwakke activiteit gevonden, zonder voorkeur voor een bepaald celtipe. De activiteit in de reëpithelialiserende cellen is zwak; deze activiteit is zwakker dan die van het oppervlakte-epitheel en van de praepylorische klieren.

Melkzuurdehydrogenase: De oppervlakkige lagen van de ulcusbodem zijn ook hier negatief. Overigens tonen vrijwel alle cellen in de ulcusbodem een matig sterke enzymactiviteit, zonder voorkeur voor een bepaald celtipe. De activiteit in de reëpithelialiserende cellen is slechts zwak; ook hier is deze activiteit zwakker dan die van het oppervlakte-epitheel en van de praepylorische klieren.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: Het beeld komt overeen met dat van de activiteit van melkzuurdehydrogenase. De activiteit is hier mogelijk nog zwakker.

Isocitroenzuurdehydrogenase: Het endotheel van de capillairen is duidelijk positief. Vooral in het granulatiweefsel is dit fraai zichtbaar. Het bindweefsel toont overigens een zwakke tot matig sterke activiteit. Een duidelijk positieve zoom is niet aanwezig. De oppervlakkige lagen zijn negatief. De reëpithelialiserende cellen tonen een duidelijke activiteit, die zwakker lijkt dan die van het oppervlakte-epitheel, doch sterker dan die van de praepylorische klieren.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: De oppervlakkige lagen van de ulcusbodem zijn negatief. Het bindweefsel is plaatselijk zwak positief, merendeels echter slechts zeer zwak positief of vrijwel negatief. Een voorkeur voor een bepaald celtype wordt niet gevonden. De activiteit in de reëpithelialiserende cellen komt overeen met die van de isocitroenzuurdehydrogenase.

Slijmkleuringen

P.A.S.: Zowel de fibrine in het exsudaat als die in de necrotische zone kleurt positief. In de diepere lagen kleuren alleen de wanden van de capillairen en het cytoplasma van de leucocyten positief. De spierlagen, het collagene bindweefsel en de vaatwanden zijn zwak positief. Het cytoplasma van de reëpithelialiserende cellen is meestal in het apicale deel duidelijk positief. Sommige cellen zijn echter slechts zeer zwak positief of zelfs negatief. Een positieve apicale celrand, gelijkend op een borstelzoom, wordt in de onderzochte gevallen in deze cellen nergens gevonden.

Astrablau: In het fibreuze weefsel wordt een zwak positief kleurende tussenstof gevonden. Overigens is de ulcusbodem geheel negatief. De reëpithelialiserende cellen zijn overal negatief.

Colloidaal ijzer: In het fibreuze weefsel van de ulcusbodem wordt een tussenstof gevonden, die zwak positief kleurt; de kleuring lijkt zwakker dan die met astrablau. Overigens is de ulcusbodem overal negatief. Alleen in het exsudaat wordt nog enig zwak positief kleurend materiaal gevonden. Het cytoplasma van de reëpithelialiserende cellen kleurt in het apicale deel zwak positief. In sommige cellen is er een zeer smalle positieve lijn langs de apicale celrand.

Beschouwingen

In de literatuur is over het voorkomen van enzymen in het ulcus pepticum vrijwel niets te vinden. FODDEN (1953) en FODDEN en STEWART (1953) vermelden de activiteit van alkalische fosfatase in de ulcusbodem en menen, dat de plaats van deze activiteit de diepte aangeeft, waartoe het maagzuur doordringt. Als argument hiervoor voeren zij aan, dat de alkalische fosfatase uit de dunne darm binnen 1 uur geïnactiveerd wordt bij 37° C en een pH, die lager is dan 4.

Wel is van verschillende celsoorten, die in de ulcusbodem voorkomen, bekend, dat zij bepaalde enzymen bevatten. Dit is het geval met de alkalische fosfatase activiteit in fibroblasten en de zure fosfatase activiteit in macrofagen (WILLIGHAGEN 1960). Deze technieken geven ons een goed inzicht in het aantal en de verspreiding van deze cellen in de ulcusbodem. Ook met de methoden voor de niet-specifieke esterase wordt een duidelijke activiteit in de macrofagen gevonden, al is deze dan ook zwakker.

Terwijl alkalische fosfatase activiteit, voor zover na te gaan, in vrijwel

alle fibroblasten wordt gevonden, is activiteit van leucine aminopeptidase slechts in een deel van deze cellen aanwezig. Waarschijnlijk zijn dit, gezien de localisatie in de meer oppervlakkige lagen van de ulcusbodem en in de prolifererende fibroblasten in een oblitererend bloedvat, de meer actieve cellen. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van MANCINI e.a. (1961), die leucine aminopeptidase wel vonden in jonge, maar niet in oudere fibroblasten. De aminopeptidase activiteit in fibroblasten is in de literatuur ter sprake gekomen naar aanleiding van de aanwezigheid van dit enzym in het stroma van maligne tumoren en een mogelijk verband van de proteolytische activiteit met de invasieve groei van deze tumoren (o.a. BRAUN-FALCO 1957, BURSTONE 1956, GLENNER e.a. 1959, FISCHER 1959).

MONIS e.a. (1958, 1959) kwamen tot de conclusie, dat deze activiteit in de fibroblasten gelocaliseerd was en een kenmerk was van prolifererende bindweefselcellen, onafhankelijk van de aanwezigheid van tumorweefsel. Zij onderzochten ook de aminopeptidase-activiteit in enkele maag-ulcera en vonden daarbij hetzelfde beeld als hierboven beschreven werd. Deze onderzoekers zagen de activiteit in fibroblasten, macrofagen en leucocyten. In onze preparaten zagen wij nergens een duidelijke activiteit in macrofagen; ook de discrepantie met de zure fosfatase en esterase kleuringen pleit tegen de localisatie van leucine aminopeptidase in macrofagen.

In de oppervlakkige lagen van de ulcusbodem wordt vrijwel geen enkele enzymactiviteit gevonden. Voor zover er al activiteit aantoonbaar lijkt, dient men zich af te vragen of hier geen sprake kan zijn van een selectieve adsorptie van de kleurstof aan in het necrotische materiaal aanwezige stoffen. Met name denk ik hier aan allerlei vet-bevattende afbraakproducten van de cellen. Op dit probleem is bij dit onderzoek niet nader ingegaan.

Een opvallende bevinding is het voorkomen van alkalische fosfatase activiteit in de spiervezels van de muscularis propria op enkele plaatsen, waar deze blind eindigen in de fibreuze ulcusbodem. Het is histologisch duidelijk, dat dit geen fibroblasten zijn, maar dat de activiteit gelocaliseerd is in het cytoplasma van de spiercellen. Of het hier een degeneratief of een regeneratief proces betreft is niet duidelijk. Een vermelding van dit verschijnsel heb ik in de literatuur niet kunnen vinden. Een verklaring kan ik er ook niet voor geven.

Het enzympatroon van de reëpithelialiserende cellen komt overeen met dat van de cellen in de diepte van de foveolae van het maagslijmvlies. Het beeld van de slijmkleuringen komt daar echter niet geheel mee overeen. In hoofdstuk IX zal nog nader ingegaan worden op de histochemische overeenkomsten en verschillen van deze cellen met de andere onder normale en pathologische omstandigheden voorkomende epitheelcellen.

Bij het vaststellen of uitsluiten van de aanwezigheid van carcinoom-

cellen in een ulcusbodem kan het histochemisch onderzoek een goede steun zijn. Kennis van de histochemische bevindingen in een gewoon ulcus pepticum is daarbij echter noodzakelijk. Op de problemen, die zich bij dit onderzoek voordoen, zal in het volgende hoofdstuk dieper worden ingegaan.

HOOFDSTUK VI

MAAGCARCINOOM

Het maagcarcinoom behoort bij de mens tot de meest voorkomende maligne tumoren, al zijn er duidelijke geografische verschillen. Nederland hoort tot de landen, waar het maagcarcinoom zeer frequent voorkomt. Aangezien de tumoren niet, of vrijwel niet gevoelig zijn voor bestraling, is, ondanks de ook dan nog slechte prognose, de chirurgische therapie het meest aangewezen. Hierdoor was het ons mogelijk om in de loop van dit onderzoek de beschikking te krijgen over vers materiaal van 50 maagcarcinomen of metastasen daarvan. Voor een gedetailleerd verslag van de resultaten van het histochemisch enzymonderzoek en het onderzoek met slijmkleuringen van deze 50 tumoren, zij verwezen naar Aanhangsel II. In tabel 2 en 3 zijn deze gegevens samengevat.

De tumoren zijn op grond van hun differentiatiegraad in drie groepen verdeeld:

- A — overwegend goed gedifferentieerde adenocarcinomen (18 gevallen)
- B — deels goed gedifferentieerde, deels ongedifferentieerde adenocarcinomen (14 gevallen)
- C — overwegend ongedifferentieerde carcinomen (18 gevallen).

Deze indeling draagt in een aantal gevallen een arbitrair karakter, doch is voor dit microscopisch-histochemische onderzoek te prefereren boven een macroscopische indeling.

Een indeling van de maagcarcinomen op aetiologische of pathogenetische gronden is helaas nog onmogelijk. Een bezwaar van de gebruikte indeling is, dat enkele gevallen van bijzondere tumoren hierin niet tot uiting komen, b.v. het carcinoma ex ulcere. In dit hoofdstuk zullen deze en dergelijke groepen echter wel apart even worden besproken.

Daarnaast is getracht een correlatie te vinden tussen de histochemische bevindingen en de localisatie van de tumor, voorzover deze uit de beschikbare gegevens is af te leiden.

Van de 50 tumoren waren er 10 aan de kleine curvatuur gelocaliseerd, 13 tumoren bevonden zich in het antrum en 14 in het cardiagebied. De resterende 13 tumoren bleken òf elders in de maag gelocaliseerd te zijn o.a. langs de grote curvatuur, in het corpus of in de achterwand, òf een zodanige diffuse groei te vertonen, dat een nauwkeurige localisatie van het uitgangspunt niet meer mogelijk was, terwijl in enkele gevallen de plaats van de tumor geheel onbekend was.

Tenslotte is er ook nog een indeling gemaakt op grond van de duur

van de maagklachten van de patiënt voor de operatie. Daarbij bleek dat bij 26 patiënten de anamnese korter was dan een half jaar, terwijl 22 patiënten reeds langer dan een half jaar maagklachten hadden. Van 2 patiënten waren onvoldoende gegevens bekend.

Thans volgt een bespreking van de resultaten (zie ook tabel 2):

Alkalische fosfatase kon in 21 carcinomen niet worden aangetoond: de meeste van deze negatieve tumoren (14) behoren tot de ongedifferentieerde carcinomen. In 19 carcinomen werd slechts plaatselijk enzymactiviteit gevonden; in 8 van deze tumoren was de activiteit langs de apicale celrand van de klierbuizen gelocaliseerd, in de vorm van een smalle lijn. De meeste (16 van de 19) van deze lokaal positieve tumoren horen tot groep A en B. Slechts 10 carcinomen toonden een duidelijke activiteit in de meeste of alle onderzochte tumorcellen. In 6 van deze 10 tumoren was de activiteit alleen te vinden in een smalle lijn langs de apicale celrand. Ook van deze positieve tumoren behoort het merendeel tot de goed gedifferentieerde adenocarcinomen. Er lijkt hier dus een verband te bestaan tussen de differentiatiegraad en de enzymactiviteit, in dien zin, dat de meeste ongedifferentieerde carcinomen negatief zijn en de meeste positieve carcinomen goed gedifferentieerd zijn. De meeste positieve of lokaal positieve tumoren zijn afkomstig van patiënten, die korter dan een half jaar klachten hadden, terwijl de meeste negatieve tumoren afkomstig zijn van patiënten, die reeds langer dan een half jaar klachten hadden.

Wat de localisatie betreft zijn de verschillen niet zo duidelijk: er lijken in de groep der cardiacarcinomen relatief meer tumoren voor te komen, die lokaal positief zijn, overigens vallen geen duidelijke verschillen op. De meeste goed gedifferentieerde carcinomen zijn positief en gaan gepaard met een korte duur van de maagklachten, terwijl anderzijds de meeste ongedifferentieerde carcinomen negatief zijn en gepaard gaan met een langere duur van de klachten. Dit is juist het tegengestelde van wat op grond van de in vele gezwollen bekende progressie zou worden verwacht. De activiteit, geschat in de coupes die gedurende 1 uur geïncubeerd zijn, is over het algemeen vrij laag. Slechts in een enkel geval wordt een hoge activiteit gevonden in de tumorcellen; zelfs dan is deze activiteit nog lager dan die in de endotheelcellen van de bloedcapillairen. Het stroma van de meeste tumoren is overigens negatief, slechts in enkele gevallen werd een duidelijke activiteit gevonden in prolifererende fibroblasten.

Zure fosfatase werd slechts in twee carcinomen niet of vrijwel niet aangetoond. In alle overige carcinomen was een zwakke tot matig sterke activiteit aanwezig (fig. 25). Een zeer hoge activiteit werd in de tumorcellen nooit gevonden, wel in vele gevallen in de in het stroma verspreid liggende macrofagen. In de ongedifferentieerde carcinomen lijkt de enzymactiviteit in het algemeen wat hoger dan in de gedifferentieerde tumoren. Slechts in enkele gevallen was het enzym voornamelijk in het apicale deel van het cytoplasma gelocaliseerd; nooit werd het enzym alleen langs

de apicale celrand gevonden, zoals bij de alkalische fosfatase kleuring. In de meeste tumoren worden verspreid in het stroma vele, vaak zelfs zeer vele cellen gevonden, waarvan het cytoplasma een zeer hoge enzymactiviteit vertoont. Dit zijn macrofagen, die veelal rondom necrotische gebiedjes in sterk verhoogde aantallen worden gevonden. Tussen de verschillende groepen tumoren (al naar differentiatiegraad, localisatie en duur van de klachten) worden geen duidelijke verschillen gevonden.

5-Nucleotidase werd in 21 van de 50 carcinomen in alle of vrijwel alle tumorcellen gevonden; in 9 carcinomen werd slechts plaatselijk activiteit aangetoond, terwijl in 20 gevallen geen enzymactiviteit gevonden werd.

Er zijn duidelijke verschillen al naar de differentiatiegraad en de duur van de klachten: de meeste goed gedifferentieerde tumoren zijn positief en hebben een korte anamnese, terwijl de ongedifferentieerde carcinomen merendeels negatief zijn en een anamnese hebben langer dan een half jaar.

Wat de localisatie betreft valt alleen op dat de meeste cardiacarcinomen positief zijn.

De enzymactiviteit is in de goed gedifferentieerde tumoren meestal alleen aanwezig langs de apicale celrand, terwijl de rest van het cytoplasma negatief is (fig. 26). Hoewel het beeld van de 5-nucleotidase activiteit in grote trekken overeenkomt met dat van de alkalische fosfatase activiteit, zijn er vele verschillen: vaak is in een bepaalde tumor het ene enzym wel, het andere niet aantoonbaar. Van een identiteit van de localisatie van beide enzymen is hier dan ook geen sprake.

Adenosinetrifosfatase activiteit wordt in 19 carcinomen wel gevonden, in 16 tumoren slechts plaatselijk en in 15 tumoren in het geheel niet. Een relatie met de differentiatiegraad is hier niet zo duidelijk als bij het vorige enzym: de goed gedifferentieerde carcinomen zijn merendeels lokaal positief of positief en slechts een enkele maal negatief. Van de ongedifferentieerde carcinomen is ongeveer de helft positief en de andere helft negatief. Het verband met de duur van de klachten en met de localisatie is hier niet duidelijk te leggen. De localisatie van het enzym komt overeen met die van 5-nucleotidase: in de goed gedifferentieerde carcinomen bestaat meestal alleen langs de apicale celrand een duidelijke activiteit.

In een deel van de tumoren toont het stroma plaatselijk een duidelijke activiteit.

Niet-specifieke esterase activiteit werd in 36 carcinomen bepaald met de α -naphthylacetaatmethode en de broomindoxylacetaatmethode, in 14 gevallen werd naphthol AS-D acetaat als substraat gebruikt. In 40 van de 50 tumoren werd een duidelijke activiteit in alle of vrijwel alle tumorcellen gevonden (fig. 27), in 8 tumoren was de activiteit slechts plaatselijk aantoonbaar, terwijl in 2 tumoren geen activiteit werd gevonden. Duidelijke verschillen tussen de resultaten van de drie gebruikte methoden werden niet gevonden. De activiteit lijkt echter, bij de gebruikte incubatietijden, wat lager bij het gebruik van α -naphthylacetaat als substraat. De tumoren,

die slechts plaatselijk positief of negatief zijn, behoren wat hun differentiatiegraad, de localisatie en de duur van de klachten betreft, niet tot een bepaalde groep. De localisatie van het enzym in de cellen is diffuus; een activiteit, die beperkt blijft tot de apicale celgrens werd nooit gevonden. Wel is de activiteit in het boven de kern gelegen deel van het cytoplasma vaak wat hoger dan in het onder de kern gelegen gebied. In het stroma wordt in verspreide cellen een duidelijke activiteit gevonden; dit beeld komt overeen met dat van de zure fosfatase activiteit, ook hier betreft het macrofagen, die vooral rondom necrotische gebiedjes worden gevonden.

Leucine aminopeptidase wordt in 16 van de 50 tumoren in het geheel niet gevonden, in 17 tumoren slechts plaatselijk terwijl in 17 carcinomen een hoge tot zeer hoge activiteit wordt gevonden (fig. 28 en 29).

Er bestaat hier wel een verband met de differentiatiegraad: de meeste ongedifferentieerde carcinomen tonen een hoge enzymactiviteit, terwijl van de goed gedifferentieerde carcinomen slechts enkele tumoren positief zijn en de meeste negatief of slechts plaatselijk positief. Hetzelfde geldt voor de duur van de klachten: een korte anamnese gaat in vele gevallen gepaard met een negatieve of lokaal positieve tumor terwijl bij langdurige klachten meestal een positieve tumor wordt gevonden. Het merendeel van de tumoren langs de kleine curvatuur is positief, de meeste cardiacarcinomen zijn echter negatief, terwijl de meeste antrumcarcinomen slechts plaatselijk positief zijn.

In vele carcinomen is de activiteit in de tumorcellen opvallend hoog, ook na korte incubatietijden (5 minuten b.v.). In de ongedifferentieerde tumoren bevindt de activiteit zich diffuus in het cytoplasma, in de klierbuisachtige structuren van de goed gedifferentieerde tumoren wordt de activiteit veelal alleen langs de apicale celrand gevonden. Opvallend is ook, dat in de tumoren, waar slechts plaatselijk activiteit wordt gevonden, deze enzymactiviteit meestal duidelijk lager is dan in de tumoren, waarvan alle of bijna alle cellen positief zijn. In het stroma van enkele tumoren wordt slechts in enkele gevallen een duidelijke activiteit gevonden in prolifererende fibroblasten. In de meeste tumoren is het stroma geheel negatief.

In vrijwel alle onderzochte tumoren worden duidelijke *dehydrogenase* activiteiten gevonden. Slechts in een enkele tumor kon geen duidelijke activiteit van een der dehydrogenasen worden aangetoond. In geen der tumoren ontbreken alle dehydrogenasen. De activiteit toont geen duidelijke verschillen naar de localisatie, de differentiatiegraad of de lengte van de anamnese. Tussen de verschillende dehydrogenasen onderling worden wel enkele verschillen gevonden: isocitroenzuurdehydrogenase geeft veelal een minder intensieve kleuring dan de andere dehydrogenasen, terwijl barnsteen-zuurdehydrogenase meestal in mindere mate aantoonbaar is dan melkzuurdehydrogenase. Alle onderzochte dehydrogenasen worden

steeds diffuus in het cytoplasma gevonden; een duidelijke voorkeur voor het apicale deel van de cel werd niet gezien. In sommige gevallen kan een vergelijking worden gemaakt met het normale oppervlakte-epitheel van de maag en met intestinale metaplasie. De activiteit in de tumorcellen is in deze gevallen steeds hoger dan in het normale oppervlakte-epitheel, doch duidelijk lager dan in intestinale metaplasie.

De 4 carcinomen, waarvan het op histologische gronden waarschijnlijk lijkt, dat deze uit een *ulcus pepticum* ontstaan zijn, tonen een duidelijke onderlinge overeenkomst: de anamnese is in deze gevallen langer dan een half jaar, de tumoren tonen geen duidelijke differentiatie met klierbuisachtige structuren, alkalische fوسفatase wordt in geen van deze tumoren gevonden, zure fوسفatase wel, 5-nucleotidase en adenosinetrifosfatase activiteit wordt slechts in 1 van deze 4 tumoren gevonden, esterase activiteit is wel aanwezig evenals dehydrogenase activiteiten, terwijl opvallend is dat deze 4 tumoren alle een zeer hoge activiteit van aminopeptidase vertonen.

Van de onderzochte carcinomen ontstonden er 5 in een resectiemaag. Deze resecties waren 4 tot 33 jaar tevoren verricht wegens een *ulcus pepticum*. Deze 5 tumoren tonen in hun differentiatie, localisatie en enzympatroon geen uniform beeld. Hetzelfde geldt voor 2 maagcarcinomen bij patiënten, van wie bekend was, dat zij leden aan pernicieuze anaemie.

De slijmkleuringen, waarvan alleen de P.A.S.-, astrablau- en colloidaal-ijzerkleuringen op de meeste carcinomen werden toegepast, tonen onderling over het algemeen geen grote verschillen. Wel bestaan er kwantitatieve verschillen, waarbij de kleuring met astrablau veelal wat zwakker is dan de beide andere kleuringen. In de colloidaalijzerkleuring worden de apicale randen van de tumorcellen het vaakst en het sterkst positief. Dit is in veel mindere mate het geval met de P.A.S. kleuring.

Tussen de groepen tumoren zijn wel enkele verschillen waarneembaar. De goed gedifferentieerde carcinomen (groep A) tonen merendeels positieve apicale randen, hetzij in alle tumorcellen, hetzij slechts plaatselijk. Sommige tumoren zijn echter geheel negatief, terwijl de astrablaukleuring vrijwel altijd zwakker is dan de P.A.S. kleuring.

De carcinomen uit groep B (deels goed, deels ongedifferentieerde carcinomen) zijn overwegend lokaal positief. Enkele tumoren zijn diffuus positief, terwijl geheel negatieve carcinomen in deze groep niet voorkomen. In de goed gedifferentieerde delen van deze tumoren zijn de apicale randen vaak duidelijk positief. (Dit is in tabel 3 niet apart vermeld.)

Ongedifferentieerde carcinomen (groep C) zijn merendeels overal of vrijwel overal positief met de gebruikte drie kleuringen. Slechts enkele tumoren zijn alleen plaatselijk positief. De ongedifferentieerde delen van de tumoren uit groep B tonen een overeenkomstig beeld.

Behalve de in tabel 3 en in aanhangsel II beschreven carcinomen werden

nog een aantal andere maagcarcinomen met dezelfde kleuringen onderzocht. Deze tumoren tonen echter eenzelfde beeld zodat een nadere detaillering niet noodzakelijk is.

TABEL 2 Resultaten van histochemisch onderzoek van 50 maagcarcinomen

	positief	locaal positief	negatief	totaal
Alkalische fosfatase	10	19	21	50
zure fosfatase	48	—	2	50
5-nucleotidase	21	9	20	50
adenosinetriphosfatase	19	16	15	50
esterase (α -naphthylacetaat)	30	3	3	36
esterase (broomindoxylacetaat)	30	4	2	36
esterase (naphthol AS-D acetaat)	10	4	—	14
leucine aminopeptidase	17	17	16	50
barnsteenzuurdehydrogenase	30	1	—	31
melkzuurdehydrogenase	32	—	—	32
β -hydroxyboterzuurdehydrogenase	30	—	—	30
isocitroenzuurdehydrogenase	29	—	1	30
glucose 6-fosfaatdehydrogenase	31	—	—	31
P.A.S.	25	22	1	48
astrablau	23	20	5	48
colloidaalijzerkleuring	25	18	2	45

Beschouwingen

In de literatuur zijn over de activiteit van een aantal enzymen in maagcarcinoom reeds gegevens bekend.

Alkalische fosfatase werd door MANHEIMER en SELIGMAN (1948/49) in de meeste maagcarcinomen niet gevonden. In enkele tumoren vonden zij locale activiteit „beneath the cuticular border of the cells”. Dit komt overeen met de apicale localisatie, zoals die door mij in talrijke tumoren werd gevonden.

GOMORI (1952/53) vond in tumoren van de tractus digestivus slechts zelden activiteit van alkalische fosfatase. SCHOLL en RUDOLPH (1958) vonden slechts op enkele plaatsen een geringe activiteit in de tumorcellen en dan nog voornamelijk in de kernen. In het stroma van de carcinomen vonden zij wel een duidelijke activiteit. MONIS en RUTENBURG (1960) vonden bij 7 maagcarcinomen slechts in 1 geval een hoge activiteit in alle stroma-elementen, terwijl in 3 andere gevallen slechts bloedvaten en fibroblasten activiteit toonden. In de tumorcellen werd door hen geen enzymactiviteit gevonden.

Zure fosfatase werd door GOMORI (1941) in 9 van de 11 onderzochte maagcarcinomen gevonden. Centraal in de tumor in de omgeving van necrosehaarden was de activiteit duidelijk hoger. In de

metastasen van de positieve tumoren vond GOMORI ook een duidelijke activiteit. CHANGUS en DUNLAP (1949/50) vonden in het maagsap van patiënten met maagcarcinoom een hogere activiteit van zure fosfatase dan bij mensen zonder maagcarcinoom. REINER, RUTENBURG en SELIGMAN (1957) vonden een wisselend sterke activiteit in maagcarcinoom. BURSTONE (1958) vond een duidelijke activiteit basaal in de tumorcellen. ROSEMAN, SIMON en SLEISINGER (1959) konden in 9 onderzochte maagcarcinomen niet meer zure fosfatase aantonen, dan in normaal epitheel, al bestond er een duidelijk verschil in activiteit tussen de tumoren onderling.

Over de activiteit van 5-nucleotidase in maagcarcinoom heb ik in de literatuur geen vermeldingen gevonden.

Adenosinetrifosfatase werd door SCHOLL en RUDOLPH (1958) onderzocht. Zij vonden een gelijkmatig verdeelde zwakke activiteit in stroma en tumorcellen, waarbij opviel dat de kernen het sterkst positief waren. MONIS en WEINBERG (1961) vermelden, dat in 3 van de 4 onderzochte maagcarcinomen een duidelijke activiteit van niet-specifieke esterase gevonden werd. Ook de macrofagen in het stroma waren duidelijk positief.

De eerste publicatie over leucine aminopeptidase activiteit in maagcarcinoom verscheen in 1959 in de vorm van een voorlopige mededeling over de eerste resultaten van het onderzoek, dat thans in dit proefschrift uitvoerig wordt vermeld (WILLIGHAGEN en PLANTEYDT 1959). Destijds waren nog slechts 4 maagcarcinomen onderzocht: in alle tumoren werd een hoge activiteit gevonden. Enkele maanden later publiceerde WATTENBERG (1959) zijn resultaten: in 7 van de 20 onderzochte maagcarcinomen werd door hem een hoge activiteit gevonden. Sindsdien zijn er nog een aantal publicaties verschenen, waarin uiteenlopende resultaten worden vermeld. FISCHER (1959) vond bij 10 maagcarcinomen slechts in enkele gevallen een duidelijke activiteit in de tumorcellen. In het stroma vond hij eveneens slechts in een enkel geval een duidelijke activiteit; in de tumorcellen was in die gevallen geen activiteit aantoonbaar. MONIS, NACHLAS en SELIGMAN (1959) onderzochten 2 maagcarcinomen en vonden geen activiteit in de tumorcellen en een hoge activiteit in het stroma. GLENNER, BURSTONE en MEYER (1959) onderzochten 1 maagcarcinoom en vonden een zeer hoge activiteit in de tumorcellen en slechts een zeer lage activiteit in het stroma.

Barnsteenzuurdehydrogenase kon door SCHOLL en RUDOLPH (1958) slechts plaatselijk in de tumorcellen en niet in het stroma worden aangetoond. MONIS, NACHLAS en SELIGMAN (1959) onderzochten 2 maagcarcinomen en vonden weinig resp. geen activiteit van barnsteendehydrogenase, een hoge activiteit van melkzuurdehydrogenase (1 geval), geen β -hydroxyboterzuurdehydrogenase (1 geval), een hoge activiteit van DPN diaforase en geen TPN diaforase. SCHENKER (1959) onderzocht de activiteit van melkzuurdehydrogenase in maagsap en vond bij normale personen een

TABEL 3. Resultaten van histochemisch onderzoek van 50

Pat.	P.A.no.	HYDROLYTISCHE ENZYMEN							barnsteen- zuur- dehydro- genase	mel- del- ge	
		Alka- lische fosfatase	zure fosfatase	5-nucleo- tidase	adeno- sine- trifosfa- tase	esterase (α - naphthyl- acetaat)	esterase (broom- indoxyl- acetaat)	esterase (naphthol A S-D acetaat)			leucine amino- pepti- dase
1	4900/58	—	±	A+	—	LA+	L+		L±		
2	5246/58	A+	A+	A+	A+	±	+		A+		
3	6058/58	A+	+	LA+	LA+	±	+		L±		
4	1048/59	L+	+	A+	LA+	±	+		L±		
5	1996/59	LA+	+	A+	LA±	L±	±		—		
6	2696/59	A+	±	A+	LA±	+	±		L+		
7	3261/59	LA+	+	A+	A+	+	+		L+		
8	4192/59	A+	±	+	L±	+	±		—		
9	4448/59	LA+	±	LA+	LA+	+	+		—		
10	6560/59	A+	A+	A+	A+	+	+		LA±	±	+
11	459/60	—	±	A+	LA+	+	+		—	±	+
12	1317/60	LA+	±	A+	A±	±	—		—	±	+
13	3031/60	—	±	—	LA±			+	—	±	+
14	3739/60	LA+	±	A+	A+			L±	A++	+	+
15	4270/60	LA+	±	A+	LA+			+	LA+	+	+
16	5143/60	A+	±	A+	A+			±	A++	±	+
17	5290/60	—	±	LA±	LA+			±	—	±	+
18	5554/60	++	+	++	++			L+	L±	+	+
19	6463/58	L±	±	—	—	±	+		L+		
20	6671/58	LA±	+	—	—	L+	L+		L+		+
21	3233/59	L+	+	L+	L±	+	+		L+		
22	4381/59	+	±	+	—	+	+		L±		
23	5134/59	—	+	—	L+	+	+		L±	+	+
24	5789/59	+	+	—	+	+	+		+	+	+
25	6561/59	LA+	±	LA+	LA+	+	+		++	±	+
26	6942/59	L+	+	—	+	±	±		—	+	+
27	7279/59	L+	+	+	L+	+	±		L+	±	±
28	384/60	L+	+	L+	LA+	+	±		+	±	±
29	929/60	L±	±	—	—	+	+		+	+	+
30	2579/60	—	—	LA±	A±			L±	—	±	±
31	4388/60	L+	+	LA+	—			±	—	±	+
32	4475/60	—	+	—	—			L±	—	±	+
33	5059/58	—	—	—	—	—	—		++		
34	982/59	—	+	—	—	—	±		—		
35	1330/59	—	+	±	±	+	+		++		
36	4142/59	—	+	±	±	+	+		+		
37	4458/59	—	+	—	—	+	+		++		
38	4694/59	—	+	—	—	+	L±		+		
39	5022/59	+	+	+	±	+	+		—	±	±
40	5159/59	L+	+	—	±	±	L+		L+	L+	±
41	5866/59	—	+	L±	L±	+	+		L+	+	+
42	6443/59	—	+	—	+	+	±		—	±	+
43	6938/59	—	+	—	—	+	±		++	±	+
44	406/60	—	+	—	—	—	±		±	+	±
45	2139/60	—	+	+	+	+	+		++	+	+
46	3153/60	L+	+	+	+			+	++	±	+
47	3470/60	—	+	—	—			±	—	±	+
48	4171/60	—	+	—	±			±	L±	+	+
49	5051/60	L+	±	—	—			±	—	±	+
50	5794/60	—	+	—	±			+	+	±	±

— = negatief

± = zwak positief

+

lagere activiteit dan in het serum, bij maagcarcinoom juist een hogere activiteit dan in het serum.

Deze literatuurgegevens samenvattend kan gezegd worden, dat er in het algemeen een goede overeenstemming bestaat met de door mij gevonden enzymactiviteiten. In de meeste gevallen onderzochten de auteurs echter slechts een zeer beperkt aantal tumoren, waardoor de variatiebreedte niet bepaald kon worden.

De in de literatuur gevonden verschillen vallen binnen de variatiebreedte van de door mij gevonden enzympatronen.

Over de histochemische eigenschappen van het in maagcarcinoom voorkomende slijm heb ik geen gegevens kunnen vinden in de literatuur.

De conclusies, die uit het histochemisch onderzoek van maagcarcinoom getrokken kunnen worden, wanneer de resultaten hiervan vergeleken worden met de resultaten van het onderzoek van normaal maagslijmvlies, metaplastisch maagslijmvlies en ulcus pepticum, zullen in hoofdstuk IX besproken worden. Ook op zichzelf kunnen echter de in dit hoofdstuk vermelde bevindingen ons reeds het een en ander leren.

In de histologische diagnostiek rijst bij het vinden van metastatisch tumorweefsel, b.v. in een lymfklier, nogal eens de vraag naar de localisatie van de primaire tumor. Op grond van het morfologisch onderzoek is het in een aantal gevallen mogelijk om hierop een afdoend antwoord te geven (b.v. bij een schildkliercarcinoom), veelal echter kan de patholoog-anatoom niet meer dan een suggestie doen, of moet hij zelfs het antwoord op deze vraag geheel schuldig blijven. Een hulpmiddel bij de histologische differentiële diagnose van maligne gezwellen zou daarom zeer welkom zijn.

WILLIGHAGEN (1959, 1960, 1961) heeft reeds gewezen op de mogelijkheid om gezwellen te differentiëren op grond van hun enzympatroon. Van belang is daarbij, dat door WILLIGHAGEN (1959) geen, door mij slechts een enkele maal, verschillen werden gevonden tussen het enzympatroon van een primaire tumor en zijn metastasen. Dit moet waarschijnlijk geweten worden aan het feit, dat het betrokken enzym slechts plaatselijk aantoonbaar was.

De vraag rijst nu of het maagcarcinoom een specifiek enzympatroon heeft, m.a.w. of het maagcarcinoom een patroon vertoont, dat constant aanwezig is en bij andere tumoren niet wordt aangetroffen. Daarvoor is het noodzakelijk de variatiebreedte van het enzympatroon van het maagcarcinoom te kennen en te beschikken over de enzympatronen van andere tumoren. Wat het eerste betreft geeft het onderzoek van 50 maagcarcinomen reeds talrijke inlichtingen (tabel 2): zo zijn de aanwezigheid van activiteit van zure fosfatase, niet-specifieke esterase en alle onderzochte dehydrogenasen eigenschappen, die slechts aan geringe quantitatievariaties onderhevig zijn. Deze enzymen worden echter ook in andere tumoren gevonden (WILLIGHAGEN 1959, 1961) o.a. in het plaveiselcelcarcinoom

van de long, het adenocarcinoom van de long en het coloncarcinoom. Op dit constante deel van het enzympatroon is dus geen volledige differentiatie mogelijk, ook al wordt het histologische beeld mede in beschouwing genomen (vgl. het coloncarcinoom).

De andere onderzochte enzymen tonen een veel minder constant beeld. Alkalische fosfatase is in 10 gevallen wel, in 19 gevallen slechts plaatselijk en in 21 maagcarcinomen niet aantoonbaar. Er bestaat hier echter een duidelijk verband met de differentiatiegraad: de goed gedifferentieerde adenocarcinomen tonen meestal een duidelijke activiteit, die in vele gevallen langs de apicale celrand is gelocaliseerd. Dit is een eigenschap, die in andere adenocarcinomen (voorzover althans momenteel voldoende gegevens bekend zijn) niet voorkomt: het adenocarcinoom van de long toont een veel hogere activiteit, die bovendien geen duidelijke apicale localisatie heeft; ook de enkele mammacarcinomen, waarin alkalische fosfatase aantoonbaar is, tonen geen duidelijk apicale localisatie van dit enzym; in het coloncarcinoom wordt geen activiteit van alkalische fosfatase gevonden. Een apicaal gelocaliseerde activiteit van alkalische fosfatase in een adenocarcinoom pleit dus sterk voor een primair maagcarcinoom. Aan het ontbreken van deze activiteit kan echter veel minder differentieel diagnostische waarde worden toegekend, aangezien dit gevonden wordt in ongeveer de helft van de onderzochte maagcarcinomen, in carcinomen van colon, schildklier, prostaat etc. (zie WILLIGHAGEN 1961).

Ook de activiteit van 5-nucleotidase in maagcarcinoom toont een sterke spreiding (tabel 2). Aangezien hetzelfde gezegd kan worden van het coloncarcinoom biedt dit enzym slechts beperkte differentieel diagnostische mogelijkheden. De apicale localisatie van het enzym, zoals die in vele gevallen van maagcarcinoom wordt gevonden biedt evenmin steun, aangezien dit ook het geval is met het coloncarcinoom.

De activiteit van adenosinetrifosfatase toont eveneens een sterke spreiding, waardoor dit enzym voor de differentieële diagnose slechts een zeer beperkte waarde heeft.

Wat leucine aminopeptidase betreft ligt de situatie echter geheel anders. Er zijn slechts enkele soorten tumoren, die een duidelijke activiteit tonen; behalve ongeveer $\frac{1}{3}$ van de onderzochte maagcarcinomen zijn dit de carcinomen van de galwegen, het hypernephroom, enkele mammacarcinomen en een deel van de bindweefselgezwollen (WILLIGHAGEN en PLANTEYDT 1959, WILLIGHAGEN 1961, ROSENHOLTZ en WATTENBERG 1961). De laatste groep is op morfologische gronden gemakkelijk te differentiëren van het maagcarcinoom. Het hypernephroom toont in een deel van de tumorcellen een duidelijke activiteit van alkalische fosfatase, terwijl de aminopeptidase activiteit duidelijk zwakker is dan voor de positieve maagcarcinomen; zodoende is veelal een differentiatie mogelijk. Ook de activiteit in mammacarcinoom is slechts matig sterk. Een differentiatie tussen maagcarcinoom en galwegcarcinoom is echter, zowel op

morfologische als op histochemische gronden zeer moeilijk. Net zoals bij alkalische fosfatase geldt ook nu weer, dat het ontbreken van aminopeptidase slechts een zeer beperkte differentieel diagnostische waarde heeft. De waarde van de slijmkleuringen voor de differentiatie van tumoren werd nog slechts zeer onvolledig onderzocht. Essentiële verschillen in histochemische slijmkleuringen tussen maagcarcinoom enerzijds en andere slijmvormende carcinomen anderzijds werden echter niet gevonden.

Terugkerende naar de vraag omtrent de specificiteit van het enzympatroon van maagcarcinoom, moet vastgesteld worden dat een kenmerkend constant patroon niet kon worden aangetoond. In vele gevallen is echter door de combinatie van histochemisch enzympatroon en morfologisch beeld (o.a. differentiatiegraad) een afdoend antwoord mogelijk op de vraag of er sprake kan zijn van een primair maagcarcinoom. Dit geldt zowel voor die gevallen, waarin op grond van het onderzoek van een metastase, de localisatie van de primaire tumor wordt gevraagd, als in de gevallen, dat een antwoord wordt verlangd op de vraag of er sprake is van een primaire tumor of van een metastase (b.v. adenocarcinoom van de long of longmetastase van een adenocarcinoom van de maag).

Hoewel een voor het maagcarcinoom specifieke enzymactiviteit niet werd gevonden, is toch de hoge aminopeptidase activiteit in vele gevallen van maagcarcinoom een opvallende bevinding, aangezien slechts weinig tumoren en andere weefsels een dergelijke hoge activiteit van dit enzym vertonen.

Bovendien wordt deze hoge activiteit het vaakst gevonden bij de ongedifferentieerde en infiltratief groeiende carcinomen. Juist deze tumoren bieden bij het onderzoek van resectieranden tijdens de operatie met behulp van vriescoupes vaak diagnostische problemen. De differentiatie tussen groepjes histiocytair cellen en strengetjes tumorcellen kan soms in de vriescoupe zeer moeilijk zijn. De hoge aminopeptidase activiteit in de tumorcellen maakt een korte incubatietijd (enkele minuten; zie aanhangsel III) mogelijk, waardoor deze kleuring zich zeer goed leent voor gebruik tijdens operaties. In verschillende gevallen werd reeds bij het onderzoek van resectieranden en van regionale lymfklieren (differentiële diagnose met reticulumcellen in de sinus) tijdens operaties deze techniek met succes gebruikt. Het is echter uit het bovenstaande wel duidelijk, dat slechts een positieve bevinding waarde heeft. Het niet aantoonbaar zijn van enzymactiviteit in een bepaald celgroepje is geen bewijs, dat het geen tumorcellen zijn, aangezien, ook van de ongedifferentieerde maagcarcinomen, een bepaald percentage tumoren geheel negatief is. Voor het opsporen van kleine groepjes tumorcellen of voor het demonstreren van de uitbreiding van de tumor kan de aminopeptidasekleuring nuttig zijn. De P.A.S.-kleuring verdient echter in dit laatste opzicht de voorkeur (ook boven de andere slijmkleuringen) aangezien ook hier een fraai kleurencontrast bereikbaar is en de meeste tumoren duidelijk P.A.S.-positief zijn.

Men kan zich afvragen of, bij de aminopeptidase positieve maagcarcinomen, een verhoging van de aminopeptidase activiteit in maagsap, serum of urine aanwezig is en zo ja, of dit een hulpmiddel zou kunnen zijn bij de klinische diagnostiek van het maagcarcinoom. In de literatuur zijn hierover enkele gegevens te vinden, zelf konden wij hiernaar geen onderzoek doen.

GOLDBARG en RUTENBURG (1958) en RUTENBURG, GOLDBARG en PINEDA (1958) vonden een verhoogde aminopeptidase activiteit in de urine van patiënten met carcinoom van pancreas, colon, long, mamma en cervix en van patiënten met leucaemie. Een verhoogde activiteit in het serum vonden zij alleen bij één patiënt met pancreascarcinoom. In 5 gevallen van maagcarcinoom vonden zij geen verhoogde activiteit in serum of urine. PINEDA, GOLDBARG, BANKS en RUTENBURG (1960) vonden een zeer hoge activiteit in het serum bij pancreaskopcarcinoom en carcinoom van de extrahepatische galwegen. Zij vonden bij een afsluitingsicterus door een tumor meestal hogere waarden, dan wanneer de afsluiting door een steen werd veroorzaakt. Ook bij hepatitis echter bestond een duidelijk verhoogde activiteit in het serum. SHAY, SUN en SIPLET (1960) concludeerden uit hun bepalingen, dat niet het pancreas zelf verantwoordelijk was voor de verhoogde activiteit in het serum, maar de obstructie van de galwegen of de levermetastasen. Een differentiatie van de oorzaak van de icterus door middel van bepaling van de aminopeptidase activiteit in het serum houden zij voor onmogelijk. De aminopeptidasebepaling in het serum is dus niet bruikbaar voor het aantonen van een carcinoom van pancreas of maag. Over bepalingen in het maagsap heb ik geen gegevens kunnen vinden. Het zeer frequent voorkomen van intestinale metaplasie van het maagslijmvlies bij patiënten met maagcarcinoom en de hoge aminopeptidase activiteit in dit metaplastische slijmvlies, maken het echter zeer waarschijnlijk, dat ook hiervan voor de diagnostiek geen verwachtingen mogen worden gekoesterd. Over de bepaling van zure fosfatase en melkzuurdehydrogenase activiteit in maagsap werd in het begin van deze beschouwingen reeds gesproken.

Tenslotte wil ik nog even ingaan op de vraag of op grond van de verschillende enzympatronen van de onderzochte 50 maagcarcinomen een indeling mogelijk is in een aantal groepen, die correlaties vertonen met de localisatie in de maag, de duur van de klachten of de differentiegraad. Voor ieder van de onderzochte enzymen apart zijn verschillende correlaties aantoonbaar, zoals bij de samenvatting van de resultaten in het begin van dit hoofdstuk reeds werd vastgesteld.

Bezien we echter het gehele enzympatroon, dan blijkt, dat een indeling in enkele groepen, waarbinnen het enzympatroon geheel gelijk is, niet mogelijk is.

Om de waarde te bepalen van een indeling, die geheel los staat van het histologische beeld en slechts steunt op de mate van activiteit van een

enkel enzym (b.v. leucine aminopeptidase), is het onderzochte materiaal te klein en de gegevens veelal te onvolledig (o.a. wat de prognose betreft). Onderzoek van een groot aantal maagcarcinomen op de activiteit van die enzymen, die daarin niet in alle gevallen aantoonbaar zijn (alkalische fosfatase, 5-nucleotidase, adenosinetrifosfatase en leucine aminopeptidase), gecombineerd met een na-onderzoek over minstens 5 jaar is daarvoor noodzakelijk.

Op de activiteit van verschillende enzymen in het stroma van de tumoren zal in hoofdstuk IX nog nader ingegaan worden.

HOOFDSTUK VII

RETICULOSARCOOM VAN DE MAAG

In de maag komen naast carcinomen nog vele andere typen tumoren voor. De meeste daarvan horen tot de zeldzaamheden, uitgezonderd leiomyomen, die zeer frequent voorkomen. Van de maligne tumoren zijn na het carcinoom, het reticulosarcoom en het leiomyosarcoom het meest frequent. De reticulosarcomen zijn vaak moeilijk met zekerheid te differentiëren van ongedifferentieerde carcinomen.

Voor dit onderzoek heb ik slechts 6 maligne maagtumoren ter beschikking gehad, die niet tot de groep der carcinomen leken te behoren. Leiomyosarcomen heb ik helaas niet kunnen onderzoeken.

Van deze 6 tumoren tonen er twee (P.A. 4363/59 en 623/60) morfologisch het typische beeld van reticulosarcoom (fig. 33). Ook het reticulinepatroon is hiermee in overeenstemming. Bij histochemisch enzymonderzoek zijn deze sarcomen gekenmerkt door een duidelijke activiteit van adenosinetrifosfatase in alle tumorcellen en door activiteit van zure fosfatase en niet-specifieke esterase in talrijke cellen, die zeer verspreid liggen in het tumorweefsel (fig. 34). Het beeld doet hier aan een sterrenhemel denken, waarbij de onderlinge afstand tussen de positieve cellen ongeveer 10 celdiameters bedraagt. De andere hydrolytische enzymen (alkalische fosfatase, 5-nucleotidase en leucine aminopeptidase) worden in de tumorcellen niet aangetoond, terwijl de in een van de tumoren tevens onderzochte dehydrogenasen in alle tumorcellen een slechts zwakke activiteit tonen.

Dit beeld komt geheel overeen met de resultaten van het histochemisch enzymonderzoek van reticulosarcomen elders in het lichaam, waarvan meerdere gevallen konden worden onderzocht (WILLIGHAGEN 1960). Ik meen dan ook, dat dit patroon beschouwd mag worden als kenmerkend enzympatroon van het reticulosarcoom.

Over de betekenis van de aanwezigheid van de genoemde enzymen in het reticulosarcoom is weinig bekend. Op de vraag waarom juist in het reticulosarcoom een duidelijke adenosinetrifosfatase-activiteit wordt gevonden, kan de biochemie ons nog geen antwoord geven. Een opvallende bevinding is verder de hoge activiteit van zure fosfatase en niet-specifieke esterase in regelmatig in het tumorweefsel verspreid liggende cellen (fig. 34). De zure fosfatase activiteit is in deze cellen hoog tot zeer hoog, terwijl de esterase activiteit minder sterk is. Met de broomindoxylacetaatmethode wordt een wat lagere activiteit gevonden dan met de α -naphthyl-

acetaatmethode. Doordat in alle gevallen de enzymkleuringen verricht worden op seriecoupes, zijn ook de zure fosfatase en niet-specifieke esterase kleuringen goed vergelijkbaar. Daardoor is het mogelijk om vast te stellen, dat zeer waarschijnlijk beide enzymen in dezelfde cellen aanwezig zijn. Of dit inderdaad tumorcellen zijn is niet met zekerheid te zeggen. Het is ook mogelijk, dat het hier macrofagen betreft, waarvan bekend is, dat zij een hoge activiteit van deze enzymen in hun cytoplasma tonen (WILLIGHAGEN en VAN DUYN 1958 en WILLIGHAGEN 1960). In het histologisch beeld kan ik hier echter geen aanknopingspunten voor vinden. Een andere mogelijkheid is, dat het hier gewoekerde reticulumcellen, tumorcellen dus, betreft, die een speciale activiteit vertonen. REINER e.a. (1957) vermelden, dat actieve reticulumcellen een duidelijke zure fosfatase activiteit bevatten. Dat deze speciale activiteit van fagocytair aard is, lijkt zeer wel mogelijk; in het histologische beeld zijn hier echter geen aanknopingspunten voor te vinden. De aard van deze verspreide cellen is dus niet met zekerheid vast te stellen.

Van de derde onderzochte tumor (P.A. 480/59) kan op grond van het histologisch onderzoek niet met zekerheid uitgemaakt worden of het een reticulosarcoom of een carcinoom is, al pleit het verloop (twee jaar voor operatie werd reeds een grote tumor gevonden, die inoperabel leek, terwijl patiënte het 1 jaar na operatie en nabestraling goed maakt) meer voor een reticulosarcoom. Het histochemisch enzymonderzoek toont een beeld, dat geheel overeenkomt met het beeld van een typisch reticulosarcoom: zure fosfatase en niet-specifieke esterase activiteit in regelmatig verspreid liggende cellen, adenosinetrifosfatase activiteit, zij het zwak, in alle tumorcellen aanwezig en de andere hydrolytische enzymen niet aantoonbaar. Het histochemisch onderzoek van de enzymen pleit dus sterk in de richting van een reticulosarcoom en ik meen dan ook dat deze diagnose hier met vrij grote waarschijnlijkheid gesteld kan worden.

Een vierde tumor (P.A. 344/60) toont bij histologisch onderzoek een beeld, dat mogelijk als een reticulosarcoom geduid kan worden. Hoewel er geen goede aanknopingspunten zijn voor de diagnose carcinoom, kan deze mogelijkheid toch niet uitgesloten worden. Bij histochemisch onderzoek wordt zure fosfatase en niet-specifieke esterase activiteit gevonden in regelmatig verspreid liggende cellen, juist als bij de boven beschreven reticulosarcomen. Er is echter geen adenosinetrifosfatase activiteit in de tumorcellen aantoonbaar. De andere hydrolytische enzymen zijn negatief, terwijl in alle tumorcellen een zwakke activiteit van de dehydrogenasen wordt gevonden. De diagnose reticulosarcoom lijkt hier op grond van het enzymonderzoek het meest waarschijnlijk, al ontbreekt adenosinetrifosfatase activiteit in de tumorcellen.

Een vijfde tumor (P.A. 6231/58) toont eveneens een enigszins afwijkend histochemisch beeld. Bij histologisch onderzoek wordt de diagnose reticulosarcoom zonder verder voorbehoud gesteld. Zure fosfatase en

niet-specifieke esterase activiteit worden ook hier weer duidelijk gevonden in regelmatig verspreid liggende cellen, op dezelfde wijze als in de boven beschreven tumoren. Bovendien echter tonen alle tumorcellen een zwakke zure fosfatase activiteit. Adenosinetrifosfatase activiteit is in alle tumorcellen aantoonbaar, terwijl 5-nucleotidase in wisselende mate, vaak groepsgewijs in de tumorcellen gevonden wordt. Leucine aminopeptidase wordt in geringe intensiteit in slechts een enkele verspreide cel gevonden; of dit inderdaad tumorcellen zijn, is niet met zekerheid uit te maken, mogelijk zijn het fibroblasten. Dehydrogenasen werden in deze tumor niet onderzocht. Hoewel het enzympatroon dus enkele afwijkingen toont van het typische beeld, zoals dat in de eerste twee tumoren gevonden werd, meen ik toch, dat dit enzympatroon voldoende aanwijzingen geeft om de histologische diagnose reticulosarcoom te kunnen bevestigen.

Geheel anders ligt de zaak bij de zesde tumor (P.A. 2427/59). Dit is een ulcererende tumor met lymfkliermetastasen, waarbij zowel de diagnose reticulosarcoom als carcinoma granulomatosum overwogen zijn. Dit laatste op grond van de granulomateuze ontsteking tussen de strengen tumorweefsel. Geen van beide diagnosen kon echter met zekerheid gesteld worden. Ook het histochemisch enzymonderzoek geeft hier geen uitsluitsel. De tumorcellen bevatten geen alkalische fosfatase, de fibroblasten en leucocyten in het granulatiweefsel echter wel. Zure fosfatase wordt in een groot deel van de tumorcellen gevonden; een regelmatige verspreiding van de positieve tumorcellen, zoals bij het reticulosarcoom, wordt hier echter niet aangetroffen. In het granulatiweefsel komen vele macrofagen voor, die een hoge zure fosfatase activiteit vertonen. 5-Nucleotidase wordt in een deel van de tumorcellen gevonden, terwijl adenosinetrifosfatase daarin niet aantoonbaar is. Niet-specifieke esterase activiteit wordt in alle strengen tumorcellen gevonden, ook hier (evenals in de zure fosfatase kleuring) geen regelmatig verspreid liggende positieve cellen. Leucine aminopeptidase wordt in het tumorweefsel niet gevonden, terwijl de dehydrogenasen niet onderzocht konden worden. Dit enzympatroon geeft in het geheel geen argumenten voor de diagnose reticulosarcoom. Een atypisch carcinoom, met name het carcinoma granulomatosum lijkt dus wel mogelijk, al ontbreken hiervoor ook voldoende positieve argumenten. Het maagcarcinoom heeft echter, zoals in het vorige hoofdstuk uiteengezet is, geen constant of typisch patroon. Anderzijds ontbreken ook argumenten, die tegen de diagnose carcinoom kunnen pleiten.

Wanneer ik nu de resultaten van het histochemisch enzymonderzoek van deze zes tumoren samenvat, blijkt

- dat in 2 gevallen de histologische diagnose reticulosarcoom bevestigd wordt,
- dat in 1 geval, waar de diagnose histologisch vaststaat, het enzympatroon niet geheel typisch is,

- en dat in 3 gevallen, waar geen zekere histologische diagnose gesteld kon worden het histochemisch onderzoek 2 maal sterk pleitte voor de diagnose reticulosarcoom en 1 maal deze diagnose niet kon uitsluiten of bevestigen.

Meerdere zekerheid bij de differentiële diagnose tussen carcinoom en reticulosarcoom is niet alleen wetenschappelijk, doch vooral ook therapeutisch van belang, aangezien een reticulosarcoom wel stralengevoelig is en een maagcarcinoom vrijwel niet; de aanbevolen behandeling van een reticulosarcoom van de maag bestaat uit een maagresectie gecombineerd met een bestraling (zie o.a. KOSTER en BLICKMAN 1958).

Hoewel het onderzochte materiaal te gering is om op grond daarvan algemeen geldende regels op te mogen stellen, meen ik toch, dat het histochemisch enzymonderzoek een belangrijke steun kan worden bij de vaak moeilijke differentiële diagnose tussen carcinoom en reticulosarcoom.

HOOFDSTUK VIII

MAAGTUMOREN BIJ DIEREN

In tegenstelling tot het bij de mens voorkomende maagcarcinoom, dat, al zijn er duidelijke geografische verschillen, een frequente ziekte mag worden genoemd, zijn spontane maagcarcinomen bij dieren zeldzaam. Zo vermelden WELLS e.a. in 1938, dat zij bij 142.000 muizen slechts 3 maal een adenocarcinoom van de maag gevonden hadden en 3 maal een adenoom. Van ratten worden groepen van respectievelijk 33.000, 100.000, 23.000 en 156.771 dieren in de literatuur vermeld, waarbij respectievelijk 1, 0,0, en 1 maagcarcinoom van de kliermaag werd gevonden (HARE e.a. 1952, STEWART 1958).

Ook bij andere dieren (cavia, konijn, hond, schaap, paard, koe) wordt een maagcarcinoom slechts zelden gevonden (STEWART 1958).

Het enige dier, waarbij spontaan maagcarcinoom frequent voorkomt, is de *mastomys natalensis*, een dier, dat in Zuid-Afrika in het wild leeft en als proefdier wordt gebruikt, o.a. bij het pestonderzoek. Dit dier houdt het midden tussen een rat en een muis en vertoont eigenschappen van beide diersoorten. OETTLÉ (1957) deed een onderzoek naar de doodsoorzaak van 236 van deze dieren, die een natuurlijke dood gestorven waren. Hij vond bij 98 dieren een adenocarcinoom van de maag, waarbij in 40 gevallen regionale lymfkliermetastasen aanwezig waren, en 9 maal metastasen op afstand. Homologe implantatie van tumorweefsel in de hersenen sloeg 3 maal aan. Implantatie in andere organen gelukte niet. De tumor was in 96 gevallen in de fundus gelegen en vaak multicentrisch. Bij de andere dieren van deze groep van 236 werd vaak een duidelijke hyperplasie van de mucosa gevonden en hyperkeratose van de voormaag. Intestinale metaplasie werd bij geen van de dieren gezien. Merkwaardig is, dat noch bij in het wild levende *mastomys natalensis* (deze dieren waren echter waarschijnlijk allen jonger dan 1 jaar), noch bij onder dezelfde omstandigheden in het laboratorium levende andere proefdieren gevallen van maagcarcinoom gevonden werden. Bij de *mastomys*, die met *bilharzia mansoni* besmet waren (deze dieren zijn hier zeer gevoelig voor) werd niet vaker maagcarcinoom gevonden, dan bij de andere dieren (OETTLÉ e.a. 1959, DAVIS en OETTLÉ 1958).

FORTNER (1957) vermeldt het voorkomen van spontaan maagcarcinoom bij de Syrische hamster.

In 1940 stelden KLEIN en PALMER enkele eisen op, waaraan een experimentele tumor moet voldoen om als maligne tumor beschouwd te kunnen

worden. Deze eisen zijn: het voorkomen van metastasen, invasieve groei, en een duidelijk verband tussen noxe en tumorgroei. Aan deze criteria voldeed geen van de tot dat moment beschreven laesies. Wel was bekend, dat adenomateuze tumoren in de maag voorkwamen bij de muizenstam I; ANDERVONT en STEWART (1937), STEWART en ANDERVONT (1938) en ANDERVONT (1949/50) vonden dergelijke tumoren zelfs bij vrijwel alle dieren van deze stam, die ouder waren dan 8 maanden. Zij beschouwden deze tumoren als goedaardig.

STRONG (1945) gelukte het om bij NHO muizen door subcutane injecties van methylcholanthreen maagcarcinomen op te wekken. De nakomelingen van deze muizenstam werden daarna geselecteerd op hun weerstand tegen locale tumoren op de plaats van de injecties. De onbehandelde nakomelingen van deze behandelde muizen kregen spontaan soortgelijke tumoren. Deze tumoren toonden invasieve groei en metastasen en voldeden ook overigens aan de eisen van Klein en Palmer. Strong meende hier te maken te hebben met een mutatie onder invloed van methylcholanthreen. De dieren toonden een hyperchlorhydrie (BERENBLUM e.a. 1958). De tumoren werden in hogere frequentie gevonden bij gecastreerde muizen, zowel van het mannelijk als van het vrouwelijk geslacht (SMITH en STRONG 1949/50). MC PEAK en WARREN (1947) konden echter niet met zekerheid de diagnose carcinoom steunen, daar zij na onderzoek van een aantal van deze tumoren, niet overtuigd waren van de invasieve groei; het vinden van metastasen wordt door hen niet genoemd. KAPLAN (1949/50) vermeldt eveneens geen metastasen; bovendien vond hij dat de tumoren niet overentbaar waren.

Inmiddels waren STEWART en LORENZ (1941/42) er in geslaagd om door injectie van methylcholanthreen in de maagwand adenocarcinoom van de maag op te wekken bij C3H muizen. Naast adenocarcinoom bleken (STEWART e.a. 1949/50) bij deze dieren ook adenomen, adenoacanthomen, carcinosarcomen en sarcomen op de plaats van de injectie voor te komen. Stewart spreekt van een carcinoom als de epitheelproliferatie is doorgewoekerd tot in de serosa. In alle andere gevallen spreekt hij van prae-carcinoom.

De opbrengst aan tumoren bleek bij de verschillende muizenstammen te verschillen (STEWART e.a. 1953). De C3H muizen toonden de meeste tumoren, zowel carcinomen als sarcomen. C57 BL muizen toonden minder tumoren, maar waren duidelijk resistent tegen sarcomen; de carcinomen groeiden ook langzamer bij deze muizen. Deze stam werd door STEWART e.a. in 1958 gebruikt om het proces van het ontstaan van de tumoren van dag tot dag te volgen. Door GREENSTEIN (1941) werd biochemisch onderzoek verricht van deze tumoren. Daarbij bleek de tumor geen alkalische fosfatase te bevatten, terwijl het zure fosfatasegehalte slechts ongeveer de helft bedroeg van dat van het normale maagslijmvlies. De tumoren van verschillende dieren toonden echter grote verschillen. Over histo-

chemisch onderzoek van deze tumoren vond ik in de literatuur niets vermeld.

STEWART en LORENZ (1942) en later ook SKORYNA en WEBSTER (1958) brachten een met methylcholanthreen doordrenkte draad aan in de submucosa van de maag van resp. muizen en ratten. Stewart en Lorenz vonden dezelfde soort afwijkingen als bij de muizen, die een intramurale injectie hadden ondergaan, terwijl Skoryna en Webster in 6% van hun proefdieren een anaplastisch maagcarcinoom vonden.

Bij intramurale injectie van methylcholanthreen bij ratten (HARE e.a. 1952) ontstonden vaak adenomateuze divertikels, die volgens de auteurs een praecarcinomateuze toestand zouden zijn. Ook adenocarcinomen, adenoacanthomen, carcinosarcomen en sarcomen werden gevonden. Bovendien werden regelmatig plaveiselcelmetaplasie en metaplastische beenvorming in de maag van deze dieren gezien. Bij injectie van methylcholanthreen in verschillende delen van de maag bleken in het antrum meer carcinomen te ontstaan, in het corpus meer sarcomen (STEWART 1958). Mogelijk tonen deze tumoren enige regressie.

JÄRVI en KEYRILÄINEN (1955) gebruikten zowel intramurale injecties van methylcholanthreen als in methylcholanthreen gedrenkte draden om deze tumoren op te wekken. Zij zagen 3 soorten cellen in deze laesies: ten eerste secernerende, zeer hoog cilindrische cellen, die de grotere lumina bekleedden; ten tweede laag niet-secernerend epitheel, dat onregelmatig voorkomt en vaak grotere holten bekleedt; ten derde kleine kliertjes van slijmvormende cellen, die overeenkomst tonen met de klieren in het normale praepylorische gebied. Deze cellen zouden ook dezelfde kleureigenschappen tonen als de praepylorische klieren. Welke kleuringen hierbij gebruikt werden, vermeldde de auteurs echter niet. In de twee eerstgenoemde celsoorten zouden soms borstelzomen te zien zijn. Bekercellen komen echter zelden voor. Ook SUGIMACHI (1959) onderscheidt 3 soorten cellen. Of deze indelingen overeenkomen, is echter op grond van de beschrijvingen niet met zekerheid uit te maken, terwijl illustraties in de publicatie van Järvi c.s. ontbreken en van de publicatie van Sugimachi slechts een referaat beschikbaar was.

Het voorkomen van op darmepitheel gelijkende cellen in het maagslijmvlies (intestinale metaplasie) bij muizen met maagtumoren werd door STRONG (1945) en STEWART e.a. (1958) vermeld. Overigens werd bij de muizen wel enige ontsteking en soms erosie gezien doch slechts een enkele maal een secundaire ulceratie.

Ook op talrijke andere manieren zijn pogingen ondernomen om maagcarcinomen bij dieren op te wekken. Ruim 20 jaar geleden vermeldde ROFFO (1938), dat hij ulceraties en adenocarcinomen had opgewekt in de rattemaag door gedurende lange tijd verhitte of met ultraviolet licht bestraalde cholesterol te voeren. Andere onderzoekers zijn er echter nooit

in geslaagd op deze wijze resultaten te boeken (voor een overzicht hiervan zie TORGERSEN e.a. (1959)).

ZALDIVAR (1959) injecteerde vet in het maagslijmvlies van vrouwelijke caviae. Bij gebruik van homoloog verhit vet ontstonden atypische proliferaties. Er bleek echter 90 dagen na de injectie reeds een duidelijke regressie van deze afwijkingen opgetreden te zijn. Ook PEACOCK e.a. (1953) konden op deze wijze bij ratten geen maligne tumoren opwekken.

LUSHBAUGH (1949) vond bij apen, die dieselolie in hun voedsel toegevend kregen, wel tekenen van een atrofische gastritis met adenomateuze proliferaties, maar geen maligne tumoren.

Het voederen van carcinogene stoffen, zoals methylcholanthreen, aan dieren heeft nooit geleid tot het ontstaan van adenocarcinoom van de maag. Wel werden vaak tumoren van de voormaag gevonden (o.a. SALMON e.a. 1949/50).

TORGERSEN en MYHRE (1959) gebruikten een „multifactor approach”: vitamine A deficiëntie, verhitte boter in het voedsel en een lokaal chirurgisch trauma. Bij 56 op deze wijze behandelde ratten werd slechts 1 adenocarcinoom van de maag gevonden, en wel bij een rat, die niet aan vitamine A deficiëntie geleden had.

Bij muizen, die blootgesteld waren aan een atoombomexplosie, werd tamelijk frequent een adenomateuze hyperplasie van het maagslijmvlies gevonden (LUSHBAUGH e.a. 1955). Acute obstructie van de pylorus leidde in een aantal gevallen tot de dood. Er werd ook „intestinalisation” gevonden. Deze adenomateuze hyperplasie werd ook in het coecum en de dunne darm aangetroffen. Maagcarcinoom werd echter niet gevonden.

NOWELL e.a. (1958) bestraalden CAF₁ muizen met neutronen resp. röntgenstralen. Zij vonden bij resp. 4 van de 162 en 1 van de 192 dieren een adenocarcinoom van de maag. Er werden geen metastasen gevonden. De muizen toonden vaak hyperplasie van het maagslijmvlies resp. in 36% en 9% van de behandelde dieren. Van de onbehandelde dieren toonde 5% deze hyperplasie.

Zeer recent vonden HUEPER en PAYNE (1960) bij hun onderzoek naar de carcinogene werking van het roet van koffiebranderijen een anaplastisch maagcarcinoom bij één van een grote groep ratten, bij wie intramuskulair een extract van dit roet was ingespoten.

Een geheel op zichzelf staande waarneming is die van SCHARRER (1949/50) die bij het insect *Leucophaea maderae* maagcarcinomen zag ontstaan na doorsnijding van de autonome zenuwen van de maag.

Uit het bovenstaande literatuuroverzicht blijkt dat maagtumoren, die vergelijkbaar zijn met het maagcarcinoom bij de mens, bij dieren vrijwel niet voorkomen. Teneinde na te gaan of het histochemisch enzymonderzoek van dierlijke tumoren toch nog enige resultaten zou kunnen opleveren, die tot een beter begrip van het maagcarcinoom van de mens

zouden kunnen bijdragen, werd gebruik gemaakt van de door STEWART e.a. (1941, 1949/50, 1953, 1958) met methylcholanthreen bij muizen opgewekte tumoren. Deze tumoren metastaseren weliswaar niet, maar zijn wel transplantabel. Zij kunnen daarom dan ook wel degelijk als potentieel maligne worden beschouwd. Als proefdier kozen wij de C57 BL muizen, aangezien STEWART e.a. (1958) bij deze stam weinig sarcomen vond en een redelijke opbrengst aan carcinomen.

25 C57 BL muizen werden voor dit onderzoek gebruikt. Bij 15 van deze dieren werd door de heer M. P. Leemhuis, med.cand., een laparotomie verricht en ongeveer 0.3 cc van een oplossing 20-methylcholanthreen in methocel in de maagwand ingespoten. Hierbij werd getracht de injectie te doen plaats vinden in het submukeuze bindweefsel. Bij 1 van deze dieren (M 442) werd de injectie na 139 dagen herhaald. Bovendien werd bij 10 muizen een met 20-methylcholanthreen doordrenkte katoendraad door de maagwand heen gehaald en op de serosa geknoopt. Bij 3 van deze dieren werd na 129 dagen nog 20-methylcholanthreen in de maagwand ingespoten. Zowel het injiciëren als het aanbrengen van de draad vond plaats op een vast punt nl. in de voorwand van de maag op een afstand van een $\frac{1}{2}$ cm onder de duidelijk zichtbare grens tussen de voormag en de kliermaag. Van deze muizen waren 19 van het mannelijk, 7 van het vrouwelijk geslacht. De leeftijd van de dieren op het moment van de laparotomie wisselde van 1 tot 11 maanden. De dieren ondergingen, behalve de genoemde operatie, overigens geen behandeling. Tijdens het onderzoek overleden 2 muizen, die echter door sterke postmortale vertering niet voor ons onderzoek geschikt waren; deze werden bij de bovengenoemde getallen niet meegerekend, evenmin als een kort na de operatie overleden muis.

De 25 muizen werden minimaal 42 en maximaal 350 dagen na de operatie met behulp van aether gedood. Daarna werd direct de gehele maag uitgenomen. Het gebied waar de injectie had plaats gevonden of waar de draad was ingebracht werd uit de maagwand gesneden samen met delen van eventueel met de maag vergroeide organen (lever o.a.). Dit stukje maagwand werd direct bevroren, waarna in de cryostaat coupes werden vervaardigd. Om macroscopisch niet zichtbare laesies te vinden werd de volgende methode toegepast: de eerste coupe werd direct met haematoxyline gekleurd en microscopisch onderzocht. Werd in deze coupe een duidelijke laesie gevonden, dan werden de eerstvolgende 20 coupes gebruikt voor de complete serie enzymkleuringen. Bevatte de eerste coupe geen duidelijke laesie, dan werden de eerstvolgende 20 coupes ongebruikt gelaten. Daarna werd er weer een coupe met haematoxyline gekleurd en onder het microscoop bestudeerd; aan de hand hiervan werd weer bepaald of de eerstvolgende 20 coupes al of niet voor de enzymkleuringen gebruikt moesten worden. Op deze wijze werd van alle laesies minstens

één complete serie enzymkleuringen verkregen. Slechts een enkele maal zijn er paraffinecoupes van de laesies vervaardigd.

Alvorens thans over te gaan tot de bespreking van de resultaten van deze proeven, wil ik eerst in het kort iets vermelden van de morfologie en histochemie van de normale maag van C57 BL-muizen. De voormaag is bekleed met verhoornend plaveiselepitheel, dat abrupt overgaat in het slijmvlies van de kliermaag. Direct distaal van deze overgang worden onder het cilindrische oppervlakte-epitheel enkele cardiakliertjes gevonden, vervolgens ziet men het corpusslijmvlies, dat morfologisch vrijwel overeenkomt met dat van de mens: ook hier hoofd- en dekcellen en mucoide nevencellen, op dezelfde wijze in klierbuizen gerangschikt als bij de mens. Het slijmvlies is echter dunner. Er lijken dus morfologisch alleen kwantitatieve verschillen te bestaan (zie ook STEWART 1958). Ook het praepylorische slijmvlies toont een duidelijke overeenkomst met dat van de mens, doch ook hier is het slijmvlies dunner. Er is in de gehele maag een duidelijke muscularis mucosae aanwezig, een submucosa, muscularis en serosa.

Histochemisch enzymonderzoek toont echter, naast enkele kwantitatieve, ook kwalitatieve verschillen tussen het maagslijmvlies van de muis en van de mens (zie tabel 4). De dekcellen van de muis bevatten een zwakke zure fosfatase activiteit, terwijl die van de mens geen activiteit vertonen. MENZIES toonde echter in 1952 bij ratten aan, dat bij deze dieren de dekcellen alleen in een bepaald functioneel stadium in het experiment zure fosfatase bevatten; hij meende, dat dit overeenkwam met de fase, waarin de

TABEL 4

Resultaten van histochemisch onderzoek van het slijmvlies van het glandulaire deel van de muizemaag. Tussen haakjes zijn de resultaten bij het onderzoek van het maagslijmvlies van de mens weergegeven.

	opper- vlakte epitheel	mucoide neven- cellen	hoofd- cellen	dek- cellen	praepy- lorische klieren	onbe- kende cellen
Alkalische fosfatase	—(—)	—(—)	—(—)	—(—)	—(—)	+
Zure fosfatase	±(+)	sp(±)	—(+ +)	±(—)	±(+)	—
5-Nucleotidase	±(—)	sp(—)	—(—)	—(—)	—(±)	+
Adenosinetrifosfatase	sp(—)	—(—)	sp(—)	—(+)	—(—)	—
Esterase (α-naphthylacetaat)	±(+)	±(±)	+(+)	+(+)	±(±)	—
Esterase (broomindoxylacetaat)	±(+)	±(±)	+(+)	—(+)	±(±)	—
Leucine aminopeptidase	—(—)	—(—)	—(—)	—(—)	—(—)	+
Barnsteenzuurdehydrogenase	sp(±)	—(±)	—(±)	++(+ +)	±(+)	—
Melkzuurdehydrogenase	±(±)	sp(±)	±(+)	++(+ +)	±(+)	—
β-Hydroxyboterzuurdehydrogenase	±(±)	±(±)	—?(±)	+?(+ +)	±(±)	—
Isocitroenzuurdehydrogenase	±(±)	sp(±)	—(±)	sp(+)	±(±)	—
Glucose 6-fosfaatdehydrogenase	±(+)	sp(±)	—(±)	+(+)	±(±)	—

— = negatief

sp. = spoor, zeer zwak positief

± = zwak positief

+ = positief

++ = sterk positief

? = zie tekst blz. 60

granula van de dekcellen hun lipine component verliezen onder invloed van pilocarpine of histamine en dat zure fosfatase hydrolyse van de fosfolipine in de dekcellen zou veroorzaken. Behalve een verschil tussen muis en mens, kan dit dus ook een functioneel verschil zijn. Een nader onderzoek hiernaar heb ik niet gedaan.

Ook de hoofdcellen tonen in dit opzicht een zeer duidelijk verschil. Bij de muis tonen deze cellen geen activiteit van zure fosfatase, terwijl bij de mens een zeer hoge activiteit wordt gevonden. Ook in dit geval is een functioneel verschil mogelijk. Hetzelfde geldt ook voor de activiteit van adenosinetrifosfatase en niet-specifieke esterase (bepaald met de broom-indoxylacetaatmethode) in de dekcellen. Een ander verschil is nog de lage activiteit van niet-specifieke esterase in de praepylorische klieren van de mens, terwijl bij de onderzochte muizen een duidelijke activiteit in deze cellen werd gevonden. Tenslotte tonen diverse dehydrogenasen in verschillende celsoorten nog quantitative verschillen. In de β -hydroxyboterzuur-dehydrogenase-kleuring wordt bij alle onderzochte muizen een vrijwel negatieve zone gevonden in het diepste deel van het slijmvlies. Deze zone neemt ongeveer de helft van het slijmvlies in. In dit gebied zijn van de hoofd- en dekcellen nog slechts schimmen zichtbaar. Dit is in tabel 4 met vraagtekens aangegeven. De oorzaak van deze negatieve zone is duister. Mogelijk is het een artefact. Dit fenomeen is door NACHLAS e.a. (1958a) reeds bij ratten gevonden en werd door mij ook bij *mastomys natalensis* geconstateerd.

Bovendien worden in de alkalische fosfatasekleuringen verspreid cellen aangetroffen, die een duidelijk positief kleurend cytoplasma hebben (fig. 35). Dit is des te opvallender aangezien alle andere epitheelcellen van het maagslijmvlies geheel negatief zijn. Deze positieve cellen worden vooral in de diepere lagen van de mucosa gevonden. In het corpusgebied, en dan nog speciaal nabij de cardiaklieren, worden de meeste van deze cellen gezien. De cellen hebben ongeveer ronde kernen, die fraai uitgespaard zijn en tamelijk veel cytoplasma hebben en liggen aan de periferie van de buizen, op dezelfde wijze als de dekcellen. De dekcellen tonen echter geen alkalische fosfatase activiteit. Zowel in de 5-nucleotidase- als in de leucine aminopeptidasekleuring worden verspreid positieve cellen gevonden, die wat hun localisatie en vorm betreft overeenkomen met de positieve cellen in de alkalische fosfatasekleuring. In de andere enzymkleuringen ben ik er niet in geslaagd dergelijke cellen terug te vinden.

In de haematoxyline eosinekleuringen heb ik deze cellen niet kunnen identificeren. Over de identiteit tast ik dan ook volledig in het duister, aangezien ik ook in de literatuur nergens een vermelding van dergelijke cellen heb gevonden. De mogelijkheid bestaat, dat het hier een functioneel stadium betreft van dekcellen; een nader onderzoek in die richting heb ik echter niet verricht.

Van de 15 muizen, die een injectie van methylcholanthreen in de

maagwand kregen, toonden 14 een duidelijke laesie, zoals die ook door STEWART e.a. (1958) is beschreven. Slechts in 1 geval ontbrak een dergelijke tumor, maar werd wel een met verhoornend plaveiselepitheel beklede cyste gevonden in het distale deel van de voormaag. Mogelijk is hier dus de ingespoten methylcholanthreen meer proximaal terechtgekomen dan de bedoeling was. Van de 14 gevonden tumoren waren de cellen in 2 gevallen geprolifereerd tot in omgevende organen (pancreas, lever) of de huid, in 6 gevallen tot in de serosa, in 5 gevallen tot in de muscularis en in 1 geval slechts tot in de submucosa.

Van de 10 muizen, bij wie een in methylcholanthreen gedrenkte draad werd aangebracht in de maagwand, werd in 1 geval geen duidelijke afwijking aan de maag gevonden. In de overige 9 muizen werd een tumorieuze proliferatie gevonden, die 2 maal tot in omgevende organen, 3 maal tot in de serosa, en 4 maal slechts tot in de muscularis reikte. De beoordeling van de infiltratieve groei wordt bemoeilijkt doordat veelal de muscularis door de injectie en de daarop volgende ontsteking plaatselijk onderbroken is.

Een duidelijk verschil tussen de tumoren in de beide groepen muizen wordt niet gevonden; wel bestaat de indruk, dat in het algemeen de laesies in de tweede groep minder uitgebreid zijn dan in de eerste groep. Voor een overzicht en verdere gegevens zie tabel 5 (p. 62).

Alle gevonden laesies waren goed gedifferentieerd (fig. 36 en 37), een ongedifferentieerde groei werd nergens gevonden. Metastasen werden nergens aangetroffen. De tumoren toonden nooit een duidelijke ulceratie, wel bestond er vaak een soort indeuking van het slijmvlies. In vele gevallen is de muscularis plaatselijk verwoest en door fibreus weefsel vervangen. De buizen prolifereren in dit bindweefsel en in het buiten de muscularis gelegen bindweefsel, soms tot in de met de maag vergroeide lever of pancreas. In het maagslijmvlies op enige afstand van de laesies werd altijd een normaal beeld gevonden, zowel morfologisch als histochemisch; met name werden geen gastritis en geen slijmvliesmetaplasie gevonden.

De differentiatie van de prolifererende cellen gaat in verschillende richtingen (fig. 41), waarbij 3 celtypen te onderscheiden zijn. Overgangsvormen zijn echter ook aanwezig, waardoor het niet altijd mogelijk is om een bepaalde cel als een van de 3 typen te classificeren.

Tot het eerste type reken ik de cilindrische cellen met basaal gelegen kern, gevacuoliseerd cytoplasma en een vage apicale celgrens. De cellen van het tweede type bekleden vaak cysten, zijn lager dan de cellen van het eerste type, meestal kubisch en vertonen geen tekenen van secretie. De apicale celgrens is bij dit type scherp. Het derde type bestaat uit cellen die ook buizen vormen en een gevacuoliseerd helder cytoplasma hebben en een basaal gelegen, wat platte kern.

In de tumoren worden geen bekercellen gevonden. Wel bevinden zich op enkele plaatsen regelmatige hoog-cylindrische cellen met ronde basaal

TABEL 5. Overzicht van de bij C57 Bl. muizen opgewekte maagtumoren

	muis no.	aantal dagen na operatie gedood	tumor gewoekerd tot in	bijzonderheden
Injectie	M 419	42	submucosa	fig. 41
	M 421	65	muscularis	fig. 36
	M 422	70	muscularis	
	M 427	89	serosa	
	M 430	121	—	cyste v.d. voormaag
	M 431	126	serosa	
	M 434	137	muscularis	
	M 435	139	pancreas en lever	fig. 37—40 en 42
	M 438	194	muscularis	
	M 439	194	serosa	
	M 440	202	serosa	
	M 441	198	muscularis	
	M 446	350	serosa	
	M 447	350	serosa	
	M 442	202	huid	2de injectie 139 dagen na operatie
Draad	M 420	45	muscularis	
	M 426	67	muscularis	
	M 432	110	—	geen laesie gevonden
	M 433	106	muscularis	
	M 436	130	serosa	
	M 437	130	serosa	
	M 445	186	pancreas en lever	
	M 448	339	serosa	bovendien na 129 dagen injectie
	M 443	184	muscularis	bovendien na 129 dagen injectie
	M 444	185	pancreas	bovendien na 129 dagen injectie

gelegen kernen en donker eosinofiel cytoplasma met een scherpe apicale celgrens.

Deze indeling in celtypen komt, voorzover dat uit hun beschrijving is op te maken (illustraties ontbreken namelijk!) overeen met die van JÄRVI en KEYRILÄINEN (1955) en SUGIMACHI (1959). Morfologisch toont het eerste celtipe enige overeenkomst met het oppervlakte-epitheel van de maag, terwijl het derde type aan de praepylorische klieren doet denken. Het tweede type is minder duidelijk gedifferentieerd.

Bij het histochemisch onderzoek blijkt vaak slechts in een deel van de cellen enzymactiviteit aantoonbaar. Het is echter niet mogelijk gebleken om voor ieder van de boven beschreven celtypen een eigen enzym-

patroon op te stellen; in de eerste plaats bleken morfologisch gelijke cellen soms een verschillend enzympatroon te vertonen, in de tweede plaats bleken veel cellen, zoals hierboven reeds vermeld werd, moeilijk met zekerheid als een van de genoemde 3 typen geassocieerd te kunnen worden.

Alkalische fosfatase activiteit werd slechts in enkele buizen gevonden in het apicale deel van het cytoplasma (fig. 38 en 42). De meeste cellen, o.a. die van het derde type, zijn geheel negatief. Cellen met een activiteit, die beperkt is tot de apicale celgrens worden niet gevonden.

Zure fosfatase activiteit wordt in alle prolifererende cellen gevonden. De activiteit is overal duidelijk doch nergens opvallend hoog. Wel wordt een hoge activiteit gevonden in vele macrofagen rondom de methylcholantheen depots, die in de in glycerine-gelatine ingebedde coupes duidelijk herkenbaar zijn als zwarte gebiedjes met talrijke, in gepolariseerd licht fraai dubbelbrekende, kristallen. Een dergelijke reactie van sterk positieve macrofagen wordt veelal om corpora aliena gevonden.

5-Nucleotidase wordt in veel meer tumorcellen gevonden dan alkalische fosfatase (fig. 39). Voor zover na te gaan tonen alle cellen, die alkalische fosfatase activiteit vertonen, ook 5-nucleotidase activiteit. Ook hier is de activiteit vooral in het apicale deel van de cellen gelocaliseerd.

Adenosinetrifosfatase activiteit wordt vooral in het stroma gevonden. De prolifererende epitheelcellen tonen slechts een zwakke activiteit, die bovendien door de sterke activiteit in het stroma moeilijk waarneembaar is.

Niet specifieke esterase activiteit wordt in vrijwel alle tumorcellen gevonden. Met de α -naphthylacetaatmethode is de activiteit wat hoger dan met de broomindoxylacetaatmethode. Rondom de methylcholantheendepots, die in deze praeparaten goed zichtbaar zijn, wordt enzymactiviteit gevonden in macrofagen (fig. 40).

Leucine aminopeptidase activiteit wordt nergens in het prolifererende epitheel gevonden. Wel is er enige activiteit in de fibroblasten rondom de methylcholantheendepots.

Alle onderzochte dehydrogenases tonen activiteit in alle tumorcellen. De sterkte van de activiteit wisselt echter in verschillende buizen en met verschillende dehydrogenases. In de barnsteenzuurdehydrogenase kleuring tonen de dekcellen een zeer hoge activiteit; in de submucosa worden soms enkele dekcellen gevonden tussen de prolifererende cellen, in de diepere lagen echter nooit.

Melkzuurdehydrogenase activiteit wordt eveneens in alle tumorcellen gevonden, doch regelmatig verspreid in de laesie komen losse epitheelcellen voor, die een veel hogere activiteit vertonen.

Hoewel dus verschillende celgroepen ook verschillende enzymatronen hebben, tonen de tumoren onderling geen duidelijke verschillen. Ook tussen kort of lang bestaande tumoren worden, behalve de uitgebreidheid, geen duidelijke morfologische of histochemische verschillen gevonden.

Volgens de door Stewart aangelegde criteria, moeten dus 13 van de bij onze muizen gevonden tumoren als carcinoom beschouwd worden. Gezien de geslaagde overentingingen moeten deze tumoren inderdaad als maligne beschouwd worden, al heb ik zelf geen metastasen gevonden en geen overentingingen verricht. De maligniteit van deze tumoren is echter van een geheel andere aard dan die van het maagcarcinoom bij de mens.

JÄRVI en KEYRILÄINEN (1955) meenden in de tumorcellen van op dezelfde wijze opgewekte tumoren wel een vage gelijkenis met darmepitheel te zien. Het histochemisch onderzoek bevestigt dit: er worden geen celgroepen gevonden, waarvan het enzympatroon overeenkomt met dat van dunne darmepitheel. De aanwezigheid van activiteit van alkalische fosfatase en 5-nucleotidase kan echter wijzen op een differentiatie in de richting van dunne darmepitheel. Deze beide enzymen zijn namelijk in het normale maagslijmvlies niet resp. slechts in geringe mate aantoonbaar en tonen in het normale dunne darmepitheel een hoge activiteit langs de apicale celrand. Activiteit van leucine aminopeptidase wordt in deze experimentele tumoren nergens gevonden.

Er zijn echter ook andere parallellen te trekken. In groepen cellen van het eerste type, die morfologisch enige gelijkenis tonen met het normale oppervlakte-epitheel van de maag, wordt veelal, doch niet altijd, een enzympatroon gevonden, dat daar volledig mee in overeenstemming is. Hetzelfde kan gezegd worden van het derde celtipe en het epitheel van de praepylorische klieren; ook hier wordt vaak, doch niet altijd, een duidelijke morfologische en histochemische overeenkomst gevonden.

Over de rol, die de niet-geïdentificeerde cellen in het maagslijmvlies, die alkalische fosfatase, 5-nucleotidase en aminopeptidase activiteit vertonen, in dit verband spelen, is niets met zekerheid te zeggen. Als deze cellen echter tot de groep van de dekcellen gerekend zouden moeten worden, lijkt het mij zeer onwaarschijnlijk, dat zij voor de histogenese van deze tumoren van belang zouden zijn.

Concluderend kan dus gezegd worden, dat in deze door methylcholanthreen opgewekte proliferaties, die als potentieel maligne zijn te beschouwen, cellen worden gevonden, die gezien het morfologische en vooral ook histochemische beeld, differentiaties tonen in verschillende richtingen, met name in de richting van normaal oppervlakte-epitheel van de maag en de praepylorische klieren en in de richting van dunne darmepitheel. Wat dit laatste betreft dient uitdrukkelijk vermeld te worden, dat hier van een histochemische identiteit geen sprake is en dat met name de leucine aminopeptidase activiteit ontbreekt in de tumoren. Het ontbreken van deze activiteit en het constante histochemische beeld van deze tumoren bij de muis zijn de voornaamste histochemische verschillen met het maagcarcinoom bij de mens. Over de verschillen en overeenkomsten tussen deze beide soorten tumoren zal in hoofdstuk IX nog het een en ander gezegd worden.

Naast deze experimenteel bij muizen opgewekte tumoren kon ook een spontaan maagcarcinoom bij een *mastomys natalensis* worden onderzocht. Dank zij de zeer gewaardeerde medewerking van Dr. Oettlé uit Johannesburg kreeg ik de beschikking over 4 dieren van deze soort. Deze dieren waren allen van het vrouwelijk geslacht, drie van hen waren 20 maanden oud, de vierde 22 maanden oud. Binnen enkele dagen tot weken na aankomst van deze dieren per vliegtuig uit Johannesburg, werden zij met behulp van aether gedood en geobduceerd. Enige speciale behandeling kregen deze dieren niet.

Bij een van de *mastomys* werden een tweetal poliepeuze woekeringen van het maagslijmvlies gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijken dit carcinomen te zijn, die zich vooral in de submucosa uitbreiden (fig. 43). De mucosa is centraal geulcereerd en door carcinoomweefsel geïnfiltréerd. De tumor toont het beeld van een matig gedifferentieerd adenocarcinoom (fig. 44), dat op vele plaatsen in solide celstrengen groeit. Er wordt in de P.A.S. kleuring slechts weinig slijm in deze tumoren gevonden. Metastasen werden niet gevonden, noch in de regionale lymfklieren, noch op afstand.

De drie andere dieren toonden geen maagtumor. Intestinale metaplasie werd niet gevonden; ook door OETTLÉ (1957) werd deze metaplasie niet aangetroffen.

Het enzympatroon van het maagslijmvlies van de *mastomys natalensis* komt overeen met dat van de muis. Ook hier worden verspreid in het slijmvlies epitheelcellen gevonden, die alkalische fosfatase bevatten. Ook in de 5-nucleotidasekleuring worden dergelijke positieve cellen gevonden. In de leucine aminopeptidasekleuring worden echter, dit in tegenstelling tot de bevindingen bij de muis, geen positieve cellen gevonden.

Hoewel de beide maagtumoren, die bij een der *mastomys* gevonden werden, morfologisch geen duidelijke verschillen tonen, worden bij het histochemisch enzymonderzoek wel enkele verschillen gevonden. Zo tonen de tumorcellen van de ene tumor een duidelijke activiteit van alkalische fosfatase, terwijl deze activiteit in de andere tumor vrijwel ontbreekt. Adenosinetrifosfatase en niet-specifieke esterase tonen echter juist een duidelijke activiteit in de tumor, waarin vrijwel geen alkalische fosfatase wordt gevonden, terwijl de alkalische-fosfatase-positieve tumor slechts een zwakke activiteit van adenosinetrifosfatase en niet-specifieke esterase toont. OETTLÉ (1957) beschreef morfologisch verschillende tumoren in één maag; dit wordt hier niet gevonden, maar in deze maag blijken morfologisch identieke tumoren duidelijk histochemische verschillen te vertonen.

Beide tumoren tonen een hoge activiteit van zure fosfatase en bevatten slechts weinig 5-nucleotidase.

Het meest opvallend is echter dat in beide tumoren een tamelijk hoge activiteit van leucine aminopeptidase wordt gevonden, vooral in de minder gedifferentieerde gebieden. Alle onderzochte dehydrogenasen tonen een duidelijke activiteit in de tumorcellen; de activiteit van melkzuur- en

β -hydroxyboterzuurdehydrogenase is echter duidelijk hoger dan die van barnsteenzuur-, isocitroenzuur- en glucose 6-fosfaatdehydrogenase.

Ook in het maagcarcinoom van deze mastomys worden dus enkele enzymen aangetroffen, die niet in het normale maagslijmvlies maar wel in het epitheel van de dunne darm van dit dier worden gevonden. Dit komt overeen met de resultaten van het onderzoek van de muizenmaagtumoren, behalve wat de leucine aminopeptidase activiteit betreft. Hoewel slechts van één dier de maagtumor onderzocht werd en dus over de variatiebreedte niets bekend is, meen ik toch een conclusie hieraan te kunnen verbinden: de aanwezigheid van leucine aminopeptidase in een maagcarcinoom van een mastomys en het ontbreken van intestinale metaplasie in het maagslijmvlies van alle door OETTLÉ (1957) en mij onderzochte dieren, wijzen er op, dat maagcarcinomen, die histochemische eigenschappen tonen, die ook in dunne darmepitheel worden gevonden, kunnen voorkomen in magen, die geen intestinale metaplasie tonen. De aanwezigheid in maagcarcinoom en intestinale metaplasie van enzymen, die in normaal maagslijmvlies ontbreken, is derhalve geen beslissend argument voor de praecancereuze aard van intestinale metaplasie.

Concluderend kan gesteld worden, dat in de maagcarcinomen van muis en mastomys een hoge activiteit gevonden wordt van een aantal enzymen, die ontbreken in het normale maagslijmvlies van deze dieren en wel aanwezig is in het dunne darmepitheel. Het lijkt waarschijnlijk, dat deze tumorcellen een differentiatie tonen in de richting van dunne darmepitheel.

HOOFDSTUK IX

SAMENVATTENDE BESCHOUWINGEN

Terwijl in de voorgaande hoofdstukken de resultaten van het histochemisch onderzoek van de maag bij de mens en enkele dieren onder normale en pathologische omstandigheden besproken werden, zal in dit hoofdstuk nader worden ingegaan op de conclusies, die daaruit getrokken kunnen worden omtrent hun onderling verband. Tevens zullen de in de voorgaande hoofdstukken vermelde resultaten nog in het kort besproken worden.

In de normale maag tonen enkele celsoorten een voor deze cellen kenmerkend enzympatroon en slijmpatroon, dat duidelijk verschilt van dat van de andere celsoorten; dit geldt voor de dekcellen en de hoofdcellen. Daarnaast zijn er enkele groepen van celsoorten, die binnen de groep geen grote verschillen in beide patronen vertonen, doch waarvan de patronen voor de groep wel kenmerkend zijn. Dit geldt voor de groep van de cardiaklieren, de praepylorische klieren en de klieren van Brunner en voor het oppervlakte-epitheel van de maag en de mucoïde nevencellen. Deze laatste twee celsoorten tonen onderling slechts quantitatieve verschillen. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum heeft kenmerkende patronen, die zeer grote verschillen tonen ten opzichte van de andere celsoorten, met name ten opzichte van het oppervlakte-epitheel van de maag (zie tabel 1 en p. 18 e.v.).

Zowel de intestinale metaplasie als de praepylorische metaplasie, die in het maagslijmvlies kunnen optreden als gevolg van regeneratie na een slijmvliesbeschadiging (b.v. bij gastritis) tonen een eigen enzympatroon en slijmpatroon (zie p. 27 en 30). De patronen van de intestinale metaplasie blijken geheel identiek te zijn met die van het oppervlakte-epitheel van het duodenum en de rest van de dunne darm, terwijl de patronen van de praepylorische metaplasie overeenkomen met die van het slijmvlies van het praepylorische gebied van de maag. Op grond van de morfologische en histochemische identiteit kan een functionele identiteit waarschijnlijk geacht worden. Ten gevolge van de regeneratie ontstaat dus een hoog gedifferentieerd slijmvlies, dat echter onder normale omstandigheden nooit op deze plaats gevonden wordt en daarom als pathologisch gekenschetst mag worden. Gezien de hoge differentiatie kan dit metaplastische slijmvlies tot op zekere hoogte als een eindtoestand beschouwd worden. Ook elders in de tractus digestivus komen dergelijke metaplasieën voor, o.a. praepylorische klieren in de dunne darm bij enteritis regionalis

(LIBER 1951, KAWEL en TESLUK 1955 en ANTONIUS e.a. 1960) en cellen van Paneth in de dikke darm bij colitis ulcerosa (WATSON en ROY 1960 en PATERSON en WATSON 1961). Ook in deze gevallen wordt een hoge differentiatie van het epitheel gevonden.

De regeneratie en dus ook de metaplasie gaat waarschijnlijk uit van de ongedifferentieerde cellen, die in de diepten der foveolae van het maagslijmvlies liggen. Deze cellen tonen, zowel wat de enzym- als wat de slijmkleuringen betreft, een geheel onspecifiek beeld. Uit deze cellen kunnen dus verschillende soorten hoog gedifferentieerde cellen regenereren (normaal oppervlakte-epitheel, praepylorische klieren en dunne darmepitheel). Zo kan een restitutie ad intregum of een metaplastisch slijmvlies ontstaan.

Wanneer wij ons afvragen, uit welke cellen een maagcarcinoom kan ontstaan, lijken deze ongedifferentieerde cellen hiervoor, op grond van hun sterke en veelzijdige regeneratieve vermogens, het meest in aanmerking te komen. Dit zijn ook de enige cellen in het maagslijmvlies waarin regelmatig mitosen worden gevonden. Als wij ons het carcinoom ontstaan denken uit deze cellen, die ook tot verschillende vormen van metaplasie kunnen leiden, is het duidelijk, dat in maagcarcinoom eigenschappen verwacht kunnen worden, die ook in het metaplastische slijmvlies voorkomen. Inderdaad worden in het maagcarcinoom eigenschappen gevonden, die ook in intestinale metaplasie voorkomen (o.a. de aanwezigheid van leucine aminopeptidase), terwijl ook het slijm in het maagcarcinoom dezelfde kleurreacties toont als het darmslijmvlies. Opvallend is, dat in geen van de onderzochte carcinomen slijm gevonden wordt, dat histochemisch overeenkomt met het slijm van het oppervlakte-epitheel van de maag (mucoid volgens de klassieke terminologie). Het slijm in maagcarcinoom kleurt als mucine. Ook het slijm in andere slijmvormende carcinomen (o.a. dikke darm- en ovariumcarcinomen) kleurt zich echter als mucine. Een specifieke eigenschap van het maagcarcinoom is dit dus niet.

Uitgaande van de veronderstelling, dat maagcarcinoom zou ontstaan uit de ongedifferentieerde cellen van de foveolae, is het duidelijk dat de histochemische overeenkomsten tussen maagcarcinoom en intestinale metaplasie niet als een beslissend argument kunnen gelden voor de hypothese, dat maagcarcinoom uit intestinale metaplasie zou ontstaan. Tegen deze hypothese pleit o.a. ook de hoge differentiatie van intestinale metaplasie, het zeer zeldzaam voorkomen van carcinomen, uitgaande van dunne darmslijmvlies, dat identiek is met intestinale metaplasie en het voorkomen van een leucine aminopeptidase bevattend carcinoom bij *mastomys natalensis*, bij welke diersoort nooit intestinale metaplasie gevonden is. Intestinale metaplasie kan dus niet als een obligate voorloper van maagcarcinoom beschouwd worden.

Dit geldt, zoals uit het bovenstaande duidelijk zal zijn, ook voor de praepylorische metaplasie.

Beide soorten metaplasie wijzen op de aanwezigheid van een chronische

beschadigende factor, waarbij de kans op carcinoom groter is dan normaal.

Gezien het feit, dat de ongedifferentieerde cellen in de foveolae in verschillende richtingen kunnen differentiëren, zouden ook in maagcarcinoom meerdere differentiaties verwacht kunnen worden. Een differentiatie in de richting van dunne darmepitheel en praepylorische klieren wordt inderdaad in carcinoom aangetroffen. Voor een differentiatie in de richting van het oppervlakte-epitheel van de maag worden echter histochemisch geen aanknopingspunten gevonden. Met name wordt geen mucoid aangetoond in maagcarcinoom.

Door meerdere auteurs (JÄRVI en LAURÉN 1951, MULLIGAN en REMBER 1954, MORSON 1955) worden in maagcarcinomen structuren vermeld, die sterk aan dunne darmepitheel doen denken (bekerzellen, borstelzoom). Deze worden door mij eveneens in een aantal tumoren aangetroffen (fig. 30). De vraag doet zich nu voor of deze cellen ook histochemische eigenschappen van dunne darmepitheel tonen. Dit is veelal wel het geval (fig. 31 en 32), al blijkt het enzympatroon niet altijd volledig overeen te komen, met name worden tumorcellen gevonden, die wel leucine aminopeptidase bevatten langs de apicale celrand, doch geen alkalische fosfatase. In het algemeen is er echter een goede overeenstemming; een histochemische identiteit wordt evenwel niet gevonden. Omgekeerd is het overigens geenszins zo, dat alle carcinoomcellen, die enzymen of slijm bevatten, die wel in dunne darmepitheel, doch niet in normaal maagslijmvlies voorkomen, een morfologisch beeld tonen, dat aan dunne darmepitheel doet denken. In vele ongedifferentieerde carcinomen wordt b.v. leucine aminopeptidase gevonden. Dit pleit tegen een metaplasie van de tumorcellen in de richting van dunne darmepitheel (intestinale metaplasie van tumorcellen) zoals MICHALANY (1959) en WATTENBERG (1959) veronderstellen.

De vier onderzochte carcinomen, waarvan aangenomen mag worden dat zij in of nabij een chronisch ulcus pepticum ontstaan zijn, bevatten alle leucine aminopeptidase. In de cellen, die de ulcusbodem opnieuw bekleden, wordt dit enzym niet aangetroffen. Directe overgangen van deze cellen in carcinoom worden niet gezien, terwijl van enkele carcinomen duidelijk is, dat zij op enige afstand van de ulcusrand ontstaan zijn. Het lijkt dus zeer wel mogelijk, dat deze carcinomen hun oorsprong vinden in de ongedifferentieerde cellen van de foveolae en dus slechts hierin verschillen van de andere carcinomen, dat het ulcus beschouwd moet worden als de bron van de chronische prikkels, die de ontsteking en de regeneratie van het omgevende slijmvlies onderhouden.

Over het ontstaan van het chronische ulcus pepticum levert het histochemische onderzoek geen nieuwe gezichtspunten op. Alleen op het verband tussen intestinale metaplasie en ulcus pepticum, waarover ik in de literatuur niets vermeld vond, wil ik in het kort ingaan. Het is bekend, dat het slijmvlies van de dunne darm minder weerstand bezit tegen het maagzuur, dan het maagslijmvlies. De mogelijkheid lijkt dus zeker aan-

wezig, dat ook intestinale metaplasie, gezien de morfologische en histochemische identiteit met dunne darmepitheel, een geringe weerstand heeft en dat een ulcus pepticum eerder zou ontstaan in een gebied met intestinale metaplasie, dan in normaal slijmvlies. Het frequent voorkomen van intestinale metaplasie in het door ulcusgastritis aangetaste slijmvlies, maakt het echter niet mogelijk om het causale verband nader te analyseren. Met de mogelijkheid, dat intestinale metaplasie zou praedisponeren tot het ontstaan van een ulcus pepticum moet echter zeker rekening gehouden worden.

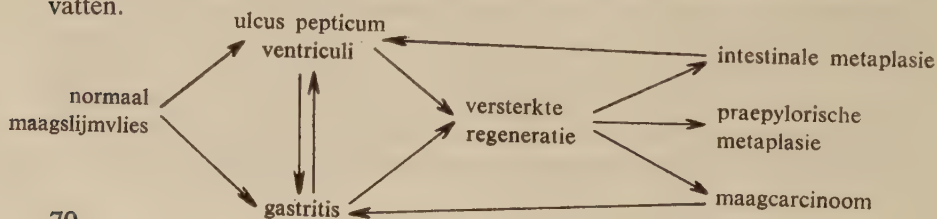
De tumoren, zoals deze bij muis en mastomys onderzocht werden, tonen weliswaar punten van overeenkomst met de tumoren bij de mens, doch er zijn ook talrijke verschillen aan te geven. De muizentumoren tonen onderling in hun histochemische enzympatroon weinig variatie, in tegenstelling tot de tumoren bij de mens, die juist een grote variatiebreedte hebben. In beide gevallen en bij de mastomys, waarvan slechts één dier met een tumor onderzocht werd, blijken er echter cellen voor te komen, die histochemische eigenschappen hebben, die wijzen op een differentiatie in verschillende richtingen, namelijk in de richting van dunne darmepitheel (mens, muis en mastomys), praepylorische klieren (mens en muis) en oppervlakte-epitheel van de maag (muis).

Ook bij muis en mastomys lijkt het zeer wel mogelijk, dat deze tumoren ontstaan uit de ongedifferentieerde cellen van de foveolae.

Tussen het stroma van het maagcarcinoom bij de mens en het bindweefsel in de bodem van het ulcus pepticum worden geen duidelijke histochemische verschillen gevonden. In beide gevallen lijkt het enzympatroon slechts verband te houden met de celsoort b.v. zure fosfatase in macrofagen, alkalische fosfatase en leucine aminopeptidase in fibroblasten.

Met nadruk zij er op gewezen, dat in het stroma van maagcarcinomen, geen histochemische eigenschappen worden gevonden, die in het bindweefsel van de ulcusbodem ontbreken. Voor de door enkele auteurs (BURSTONE 1956, BRAUN-FALCO 1957, GLENNER, BURSTONE en MEYER 1959) gemaakte veronderstelling, dat er een verband zou bestaan tussen de activiteit van leucine aminopeptidase in het stroma en infiltratieve groei, werden geen aanknopingspunten gevonden. Dit komt overeen met de bevindingen van MONIS e.a. (1958).

Tot slot van deze beschouwingen over het onderling verband tussen het normale maagslijmvlies en de verschillende daarin optredende pathologische processen wil ik trachten een en ander in een schema samen te vatten.



SAMENVATTING

In dit proefschrift is getracht na te gaan in hoeverre histochemisch onderzoek een bijdrage kan leveren tot de kennis van de normale maag en van de verschillende pathologische processen, die in dit orgaan voorkomen. Daartoe werd gebruik gemaakt van:

- a) enige histochemische enzymbepalingen: alkalische en zure fosfatase, 5-nucleotidase, adenosintrifosfatase, niet-specifieke esterase, leucine aminopeptidase, barnsteenzuurdehydrogenase, melkzuurdehydrogenase, β -hydroxyboterzuurdehydrogenase, isocitroenzuurdehydrogenase en glucose 6-fosfaatdehydrogenase;
- b) enige slijmkleuringen o.a. de perjoodzuur-Schiff reactie, de astrablauwkleuring en de colloidaalijzerkleuring.

In hoofdstuk II worden deze technieken besproken, terwijl in aanhangsel III de gedetailleerde voorschriften van de enzymkleuringen worden gegeven.

Het onderzoek leidde tot de volgende resultaten en conclusies:

1) Zowel hoofdcellen als dekcellen van de mens hebben een eigen enzympatroon, dat duidelijke verschillen toont ten opzichte van de andere epitheelcellen in het maagslijmvlies. Slijm wordt in deze cellen niet gevonden, (blz. 18 e.v.).

2) Cardiaklieren, praepylorische klieren en klieren van Brunner tonen zowel wat de activiteit van enzymen, als wat de slijmkleuringen betreft, een duidelijke overeenkomst (blz. 18 e.v.).

3) Hetzelfde geldt voor het oppervlakte-epitheel van de maag en de mucoide nevencellen.

Deze laatste cellen tonen zwakkere enzymactiviteiten en slijmreacties, doch kwalitatieve verschillen werden niet gevonden (blz. 18 e.v.).

4) De activiteit van adenosintrifosfatase en barnsteenzuurdehydrogenase en de andere dehydrogenasen in de dekcellen houdt waarschijnlijk verband met de energievoorziening voor de zoutzuurproductie in deze cellen (blz. 22).

5) De activiteit van adenosintrifosfatase in de dekcellen wordt geremd door formaline, de activiteit in het stroma wordt niet duidelijk geremd door formaline. Met de mogelijkheid, dat hier sprake is van twee verschillende enzymen moet rekening worden gehouden (blz. 21).

6) Doordat de activiteit van barnsteenzuurdehydrogenase in de dekcellen veel hoger is dan in enige andere celsoort in het maagslijmvlies, is

deze kleurtechniek zeer geschikt voor de bestudering van de verspreiding en de localisatie van deze cellen (blz. 22).

7) Voor de slijmkleuringen werd in het maagslijmvlies een goede overeenstemming gevonden tussen de oude empirische en de moderne histochemische methoden. Op grond van het onderzoek van een groot aantal slijmkleuringen werd voor het verdere onderzoek slechts gebruik gemaakt van de P.A.S.-, astrablau- en colloidaalijzerkleuring. De andere slijmkleuringen tonen geen noemenswaardige verschillen ten opzichte van deze drie kleuringen (blz. 23).

8) Tussen het oppervlakte-epitheel van de maag en dat van het duodenum bestaan, behalve morfologische, ook belangrijke histochemische verschillen (blz. 18 e.v.).

9) Intestinale metaplasie in het maagslijmvlies is zowel morfologisch als histochemisch en mogelijk ook functioneel identiek met het epitheel van de dunne darm. Het voorkomen van functionerend dunne darmslijmvlies in de maag heeft mogelijk klinische betekenis (blz. 29).

10) Praepylorische metaplasie is morfologisch en histochemisch identiek met het praepylorische maagslijmvlies (blz. 30).

11) In de bodem van het ulcus pepticum chronicum tonen de bindweefselementen dezelfde enzymactiviteiten als elders in het lichaam (o.a. zure fosfatase in macrofagen, alkalische fosfatase en leucine aminopeptidase in fibroblasten) (blz. 35 e.v.).

12) De epitheelcellen, die de ulcusbodem opnieuw gaan bekleden, tonen geen opvallend enzympatroon. In dit opzicht komen zij overeen met de ongedifferentieerde cellen in de diepte van de foveolae van het maagslijmvlies (blz. 36).

13) In de spiervezels van de muscularis wordt op de plaats, waar deze in de ulcusbodem eindigt, een duidelijke activiteit van alkalische fosfatase gevonden. Overal elders toont het spierweefsel geen activiteit (blz. 36).

14) Bij het onderzoek van 50 maagcarcinomen bleken talrijke individuele verschillen aanwezig. Terwijl in vrijwel alle 50 tumoren een duidelijke activiteit van zure fosfatase, niet-specifieke esterase en van de dehydrogenasen gevonden werd, was dit met de andere enzymen niet het geval. Alkalische fosfatase werd in 10 tumoren in alle tumorcellen gevonden, in 19 tumoren slechts in een deel van de tumor. De meeste van deze positieve tumoren zijn goed gedifferentieerde adenocarcinomen. Activiteit van 5-nucleotidase werd eveneens in de meeste goed gedifferentieerde tumoren gevonden; het beeld is echter geenszins identiek met dat van alkalische fosfatase. Adenosinetrifosfatase wordt eveneens slechts in een deel van de tumoren gevonden; een verband met de differentiatiegraad is hier niet duidelijk (blz. 39 e.v.).

15) Leucine aminopeptidase wordt in 16 tumoren niet aangetoond, in

17 tumoren is de activiteit slechts plaatselijk aanwezig terwijl in 17 tumoren de cellen een hoge tot zeer hoge activiteit tonen. Het merendeel van deze positieve carcinomen is ongedifferentieerd (blz. 41).

16) In de goed gedifferentieerde adenocarcinomen wordt de activiteit van alkalische fosfatase, 5-nucleotidase, adenosinetrifosfatase en leucine aminopeptidase veelal slechts langs de apicale celrand van de carcinoomcellen gevonden. De andere enzymen zijn in deze gevallen in het apicale deel van het cytoplasma aantoonbaar. Deze localisatie komt overeen met die in het normale oppervlakte-epitheel van de dunne darm (blz. 39 e.v.).

17) Voor de microscopische differentiële diagnose van maligne tumoren (b.v. bij het onderzoek van metastasen zonder bekende primaire tumor) kan het histochemische enzymonderzoek een belangrijk hulpmiddel zijn. Speciaal de bepaling van leucine aminopeptidase, die slechts in een beperkt aantal tumoren van andere oorsprong wordt gevonden, kan een waardevol hulpmiddel zijn (blz. 45 e.v.).

18) Ook voor het onderzoek van lymfklieren en de resectieranden van het maagresectiepreparaat tijdens de operatie met behulp van vriescoupes kan de leucine aminopeptidase kleuring een belangrijk hulpmiddel zijn (blz. 47).

19) Het slijm in het maagcarcinoom kleurt zich altijd als mucine (evenals de borstelzoom en de bekerzellen van het dunne darmepitheel en het slijm in andere carcinomen) en nooit als mucoïd (zoals het oppervlakte-epitheel van de maag) (blz. 42).

20) Een indeling van maagcarcinomen in groepen, waarbinnen het enzympatroon geheel gelijk is, is niet mogelijk gebleken (blz. 48).

21) Het reticulosarcoom toont een specifiek histochemisch beeld (zure fosfatase en niet-specifieke esterase in regelmatig verspreid liggende tumorcellen en veelal een duidelijke activiteit van adenosinetrifosfatase). Voor de differentiële diagnose ten opzichte van ongedifferentieerde carcinomen kan het histochemische enzymonderzoek van belang zijn (blz. 50 e.v.).

22) Bij C 57 Bl. muizen werden door intramurale injectie van 20-methylcholanthreen tumoren opgewekt, die in ongeveer de helft van de gevallen als een adenocarcinoom geïdentificeerd werden. Bij histochemisch onderzoek werden enzymen aangetoond in deze tumoren, die in het normale maagslijmvlies van deze muizen geheel of vrijwel ontbreken maar wel voorkomen in het dunne darmepitheel. Dit wordt beschouwd als een differentiatie in de richting van darmepitheel. Ook een differentiatie in de richting van oppervlakte-epitheel van de maag en van praepylorische klieren lijkt aanwezig (blz. 61 e.v.).

23) De belangrijkste verschillen tussen deze muizentumoren en het maagcarcinoom van de mens zijn het biologische gedrag, het constante

histochemische beeld van de muizentumoren en het ontbreken van leucine aminopeptidase in deze muizentumoren (blz. 63).

24) In het normale maagslijmvlies van muis en mastomys natalensis worden in de alkalische fosfatase en 5-nucleotidasekleuringen verspreide positieve cellen gevonden in de periferie van de klierbuizen. Bij de muis worden ook in de leucine aminopeptidasekleuring positieve cellen gevonden. De aard en de herkomst van deze cellen is niet duidelijk (blz. 60 en 64).

25) Bij één van de vier onderzochte mastomys natalensis werd een tweetal maagcarcinomen vastgesteld. Deze tumoren tonen een duidelijke activiteit van leucine aminopeptidase. Dit wijst op een differentiatie in de richting van dunne darmepitheel (blz. 66).

26) Leucine aminopeptidase wordt dus niet gevonden in het normale maagslijmvlies, wél in dunne darmepitheel, in intestinale metaplasie, in een deel van de maagcarcinomen van de mens en in een maagcarcinoom van mastomys natalensis, bij welke diersoort nooit intestinale metaplasie werd gevonden. Deze gegevens wijzen erop, dat het verband tussen intestinale metaplasie en maagcarcinoom indirect is, d.w.z. dat beiden onder invloed van onbekende en mogelijk dezelfde prikkels kunnen ontstaan uit de ongedifferentieerde cellen in de foveolae. De histochemische eigenschappen van maagcarcinoom wijzen op een differentiatie in de richting van dunne darmepitheel (bij mens, muis en mastomys), van praepylorische klieren (bij mens en muis) en van oppervlakte-epitheel van de maag (bij de muis).

Voor een metaplasie van de carcinoomcellen in deze richtingen werden geen aanwijzingen gevonden. Het lijkt onwaarschijnlijk, dat maagcarcinoom direct uit intestinale metaplasie zou ontstaan (blz. 68 e.v.).

SUMMARY

In this thesis the question is examined whether histochemical investigations could make a contribution to the knowledge of the normal stomach and of the different pathological processes, that occur in this organ.

The methods used were:

- a) some histochemical enzymemethods: alkaline and acid phosphatase, 5-nucleotidase, adenosinetriphosphatase, non-specific esterase, leucine aminopeptidase, succinic dehydrogenase, lactic dehydrogenase, β -hydroxybutyric dehydrogenase, isocitric dehydrogenase and glucose 6-phosphate dehydrogenase;
- b) some staining reactions for mucin e.g. the periodic acid-Schiff reaction, the astrablau- and colloidal iron staining.

In chapter II these methods are discussed while in the appendix III detailed prescriptions are given of the enzyme reactions.

The following conclusions could be drawn:

1. Chief cells as well as parietal cells in the human stomach have their own enzyme pattern. These are quite different from those of the other epithelial cells in the gastric mucosa. No mucus was found in these cells.
2. Cardiac, pyloric and Brunner glands do not show any important differences in their enzyme and mucus patterns.
3. The same can be stated about the surface epithelium of the stomach and the mucous neck cells. The latter show weaker enzyme activities and mucus staining reactions, but no qualitative differences were found.
4. The activity of adenosinetriphosphatase, succinic dehydrogenase and the other dehydrogenases in the parietal cells are probably related to the energy supply for the production of hydrochloric acid in these cells.
5. The adenosinetriphosphatase activity in the parietal cells is inhibited by formalin, while the activity in the stroma is not inhibited by formalin. The possibility is suggested that different enzymes are concerned.
6. The activity of succinic dehydrogenase is much higher in the parietal cells than in the other epithelial cells of the gastric mucosa, so this technic is quite suited for the study of the distribution and localization of these cells.
7. As for the mucus staining reactions a good concurrence was found between the older empirical methods and the modern histochemical ones. For the rest of the investigation the P.A.S.-, astrablau- and colloidal iron

methods were selected, as the other technics used did not show important differences compared with those three methods.

8. Between the surface epithelium of the stomach and that of the duodenum not only morphological but also important histochemical differences were found.

9. Intestinal metaplasia of the gastric mucosa is not only morphologically but also histochemically and possibly also functionally identical to the epithelium of the small intestine. The occurrence of functioning intestinal mucosa in the stomach may have a clinical significance.

10. Pyloric metaplasia is morphologically and histochemically identical to the mucosa in the antrum of the stomach.

11. In the bottom of the chronic peptic ulcer the connective tissue elements show the same enzyme activities as they do elsewhere in the body (e.g. acid phosphatase in macrophages, alkaline phosphatase and leucine aminopeptidase in fibroblasts).

12. The epithelial cells, that cover the bottom of the ulcer, do not show a striking enzyme pattern. In this respect they resemble the undifferentiated cells in the depth of the surface pits.

13. The muscle fibers show alkaline phosphatase activity on the place where the muscular layer ends in the bottom of the ulcer.

Everywhere else the muscle fibers are negative in this respect.

14. The investigation of 50 cases of gastric carcinoma showed some individual variation. In nearly all 50 carcinomas acid phosphatase, non-specific esterase and the dehydrogenases could be demonstrated in the tumour cells.

This was not the case with the other enzymes we investigated. Alkaline phosphatase was found in all tumour cells in 10 cases only, while in 19 cases part only of the cells showed any activity. The greater part of these positive tumours were well-differentiated adenocarcinomas. Activity of 5-nucleotidase was found in most of the well-differentiated adenocarcinomas; the pattern is not identical with that of the alkaline phosphatase activity, however.

Adenosinetriphosphatase could be demonstrated in part of the tumours only; a relation to the degree of differentiation is not evident here.

15. Leucine aminopeptidase was not found in 16 tumours, in 17 tumours the activity was only locally present, while in another 17 tumours the tumour cells showed a high or very high activity. The greater part of these positive tumours were undifferentiated carcinomas.

16. In well-differentiated adenocarcinomas the activity of alkaline phosphatase, 5-nucleotidase, adenosinetriphosphatase and leucine aminopeptidase was usually found only along the apical border of the tumour cells.

The other enzymes could be demonstrated in the apical part of the cytoplasm in these cases. This localization resembles the pattern in the normal surface epithelium in the small intestine.

17. For the microscopical differential diagnosis of malignant tumours (e.g. the examination of metastases without knowledge of the localization of the primary tumour) enzyme histochemistry may be a useful aid.

This holds especially for the leucine aminopeptidase activity, which is present in only a few other tumours.

18. For the examination of lymphnodes and surgical margins of the stomach during the operation using frozen sections the leucine aminopeptidase method can be used for the detection of small islands of tumour cells.

19. The mucus of gastric carcinoma stains as mucin (just like the striated border and the goblet cells of the epithelium of the small intestine and like the mucus in other carcinomas) and never as mucoid (like the surface epithelium of the stomach).

20. A classification of gastric carcinoma in groups, which show an identical enzyme pattern, is not possible.

21. Reticulosarcoma shows a specific enzyme pattern (acid phosphatase and non-specific esterase in some tumour cells, that are evenly distributed in the tumour and usually a pronounced activity of adenosine-triphosphatase).

For the differential diagnosis from undifferentiated carcinoma the histochemical investigation of enzymes can be important.

22. In the glandular stomach of C57 Bl. mice tumours were induced, using intramural injection of 20-methylcholanthrene in the stomach wall. About 50% of these tumours were classified as adenocarcinomas. Histochemical investigation showed activities of enzymes, that are not present in the normal glandular stomach of these mice but which could be demonstrated in the normal epithelium of the small intestine. This is regarded as a differentiation in the direction of intestinal epithelium. A differentiation towards surface epithelium of the stomach and towards pyloric glands also seems probable.

23. The most important differences between these tumours of mice and the human gastric carcinoma are the biologic behavior, the constant histochemical pattern of the tumours in mice and the lack of leucine aminopeptidase activity in these tumours.

24. In the normal gastric mucosa of mice and *mastomys natalensis* we found, in the slides stained for alkaline phosphatase and 5-nucleotidase activity, scattered positive cells in the periphery of the glands. In mice similar cells were also found in the slides stained for leucine aminopeptidase activity. The nature and origin of these cells is not known.

25. In one of four *mastomys natalensis* two gastric carcinomas were found. These tumours show a high leucine aminopeptidase activity. This points to a differentiation towards intestinal epithelium.

26. Leucine aminopeptidase was not demonstrated in the normal gastric surface epithelium, but it was found in the epithelium of the small intestine, in intestinal metaplasia, in part of the human gastric carcinomas and in gastric carcinoma in one *mastomys natalensis*, in which animal no intestinal metaplasia is ever found. This points to the relation between intestinal metaplasia and gastric carcinoma being an indirect one, that is: that both lesions may take their origin from the undifferentiated cells in the surface pits under the influence of unknown but possibly the same stimuli.

The histochemical properties of gastric carcinoma point to a differentiation towards the epithelium of the small intestine (man, mouse and *mastomys*), towards the pyloric glands (man and mouse) and towards the gastric surface epithelium (mouse). No presumptive evidence for a metaplasia of tumour cells in these directions were found. It seems improbable that gastric carcinoma might arise directly from intestinal metaplasia.

LITERATUUR.

- ANDERVONT, H. B., Spontaneous lesion of stomach in strain I mice. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 405.
- ANDERVONT, H. B. and H. L. STEWART, Adenomatous lesion in stomach of strain I mice. *Science*, 86 (1937) 566.
- ANTONIUS, J. I., F. E. GUMP, RAFFAELE LATTES and M. LEPORE, A study of certain microscopic features in regional enteritis, and their possible prognostic significance. *Gastroenterology*, 38 (1960) 889.
- AREY, L. B. and R. T. BOTHE, On the occurrence of epithelium and glands of the intestinal type in the gastric mucosa. *S.G.O.* 90 (1950) 86.
- BALDWIN, E., *Dynamic aspects of biochemistry*; 3rd ed., Cambridge, University Press, 1957.
- BAUER, H., Mikroskopisch-Chemischer Nachweis von Glykogen und einigen anderen Polysacchariden. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 33 (1933) 143.
- BERENBLUM, I. and H. FOGEL-KAUFMAN, Chemical analysis of the gastric contents of BRS mice before and after the development of spontaneous tumors in the glandular mucosa of the stomach. *Cancer*, 11 (1958) 597.
- BERG, J. W., Histological aspects of the relation between gastric adenomatous polyps and gastric cancer. *Cancer*, 11 (1958) 1149.
- BERGEN, E. H., The distribution of parietal cells in the stomach: a histotopographic study. *Am. J. Anat.* 54 (1934) 87.
- BONNE, C., Ph. H. HARTZ, J. V. KLERKS, J. H. POSTHUMA, W. RADSMA and SOETOMO TJOKRONEGORO, Morphology of the stomach and gastric secretion in Malays and Chinese and the different incidence of gastric ulcer and cancer in these races. *Am. J. Cancer*, 33 (1938) 265.
- BRAUN-FALCO, O., Histochemical demonstration of aminopeptidase in normal and pathological skin. *J. Histochem. Cytochem.* 5 (1957) 94.
- BRAUN-FALCO, O., Beitrag zum Verhalten der Grundsubstanz bei malignen epithelialen Hauttumoren. *Derm. Wschr.* 135 (1957) 417.
- BURSTONE, M. S., Histochemical demonstration of proteolytic activity in human neoplasms. *J. Nat. Cancer Inst.* 16 (1956) 1149.
- BURSTONE, M. S., Histochemical demonstration of acid phosphatases with naphthol AS-phosphates. *J. Nat. Cancer Inst.* 21 (1958) 523.
- BURSTONE, M. S. and J. E. FOLK, Histochemical demonstration of aminopeptidase. *J. Histochem. Cytochem.* 4 (1956) 217.
- CASELLA, C., Il permanganato di potassio quale ossidante in alcune reazioni istochimiche dei polisaccaridi. *Anat. Anzeiger*, 93 (1942) 289.
- CHANGUS, G. W. and C. H. DUNLAP, Acid-phosphatase activity in the gastric content of patients with carcinoma of the stomach. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 481.
- CLARA, M., Untersuchungen über den färberischen Nachweis des Schleimes in den Drüsenzellen beim Menschen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 47 (1940) 183.
- COONS, A. H., M. H. KAPLAN and E. H. LEDUC, Localization of antigen in tissue cells VI. The fate of injected foreign proteins in the mouse. *J. exp. med.* 93 (1951) 173.
- CURRAN, R. C., The histological demonstration of connective-tissue mucopolysaccharides, in: *Biochemical Society Symposia* no. 20, Cambridge University Press, 1961. p. 24.
- DAVIS, D. H. S. and A. G. OETTLÉ, The multimammate mouse *rattus* (mastomys)

- natalensis Smith: a laboratory-adapted African wild rodent. *Proc. Zool. Soc.* 131/2 (1958) 293.
- DEELMAN, H. T., Over de veranderingen van het maagslijmvlies in verband met leeftijd en kankerstudie. *N.T.v.G.* 64 (2a) (1920) 352.
- DEELMAN, H. T., Leerboek der pathologische anatomie; 4e dr. Haarlem, Erven Bohn, 1956. p. 391.
- DIXON, M. and E. C. WEBB, *Enzymes*. Longmans, Green, 1958.
- DOLL, R., Cancer of the alimentary tract. I. Aetiology of cancer of the stomach, in: *Modern trends in gastroenterology*; 2nd series 1958, p. 53.
- FASSKE, E., Zur Darstellung der sauren Mukopolysaccharide im Bereich der Zwischensubstanz mesenchymaler Gewebe. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* 97 (1957) 174.
- FISCHER, R., Über den histochemischen Nachweis der Amino-peptidase im Krebsgewebe. *Z. Krebsforschung*, 63 (1959) 18.
- FLOREY, H. W., *General Pathology*, ch. VI. The secretion of mucus and inflammation of mucous membranes, London, 1958.
- FODDEN, J. H., Gastric and duodenal tissue alkaline phosphatase in peptic ulceration. *Gastroenterology*, 23 (1953) 372.
- FODDEN, J. H. and R. D. STEWART, Phosphatase activity as a gauge of acid influence in peptic mucosal damage. *Am. J. med. Sci.* 225 (1953) 187.
- FORTNER, J. G., Spontaneous tumors, including gastrointestinal neoplasms and malignant melanomas, in the Syrian hamster. *Cancer*, 10 (1957) 1153.
- GEDIGK, P., Über neue Färbeverfahren für Mucopolysaccharide und Phospholipide. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* 95 (1956) 486.
- GEISSENDÖRFER, R., Untersuchungen über Vorkommen, Lokalisation und Ausbreitungsweise der Umbaugastritis in Carcinommagen. *Arch. klin. Chir.* 153 (1928) 235.
- GLENNER, G. G., M. S. BURSTONE and D. B. MEYER, A study of aminopeptidase activity in the stroma of neoplastic tissue, with a comparison of histochemical techniques. *J. Nat. Cancer Inst.* 23 (1959) 857.
- GÖSSNER, W., Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode; Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden Histotopik der Esterasen und Phosphatasen bei Wirbeltieren. *Histochemie*, 1 (1958) 48.
- GOLDBARG, J. A. and A. M. RUTENBURG, The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. *Cancer*, 11 (1958) 283.
- GOMORI, G., Microtechnical demonstration of alkaline phosphatase in tissue sections. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 42 (1939) 23.
- GOMORI, G., Distribution of acid phosphatase in tissue under normal and under pathological conditions. *Arch. Path.* 32 (1941) 189.
- GOMORI, G., Aldehyde-fuchsin: A new stain for elastic tissue. *Am. J. clin. Path.* 20 (1950) 665.
- GOMORI, G., Sources of error in enzymatic histochemistry. *J. Lab. clin. Med.*, 35 (1950) 802.
- GOMORI, G., *Microscopic Histochemistry; principles and practice*. University of Chicago Press, Chicago, 1952.
- GOMORI, G., Histochemical Studies of the gastrointestinal mucosa. *J. Nat. Cancer Inst.* 13 (1952/53) 1039.
- GOMORI, G., The histochemistry of mucopolysaccharides. *Brit. J. exp. Path.* 35 (1954) 377.
- GREENSTEIN, J. P. and H. L. STEWART, Note on the enzymatic activity of a transplanted adenocarcinoma of the glandular stomach of a mouse. *J. Nat. Cancer Inst.* 2 (1941) 631.
- GUISS, L. W. and F. W. STEWART, Chronic atrophic gastritis and cancer of the stomach. *Arch. Surg.* 46 (1943) 823.

- GURR, G. T., *Methods of analytical histology and histochemistry*. London, E. Gurr, 1958.
- HALE, A. J., The effect of formalin on the periodic acid Schiff staining of certain types of mucus. *J. Histochem. Cytochem.* 3 (1955) 421.
- HALE, A. J., The histochemistry of polysaccharides. *Int. Rev. Cytol.* 6 (1957) 193.
- HALE, C. W., Histochemical demonstration of acid polysaccharides in animal tissues. *Nature*, 157 (1946) 802.
- HARE, W. V., H. L. STEWART, J. G. BENNETT and E. LORENTZ, Tumors of the glandular stomach induced in rats by intramural injection of 20-methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 12 (1952) 1019.
- HEINKEL, K., Histologie der chronischen Gastritis im Biopsiematerial. *Gastroenterologia*, 92 (1959) 322.
- HENNING, N., Die chronische Gastritis im Lichte moderner Untersuchungsmethoden. *Gastroenterologia*, 92 (1959) 307.
- HESS, R., Early cancer of the stomach. *Gastroenterologia*, 86 (1956) 365.
- HOTCHKISS, R. D., A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Biochem.* 16 (1948) 131.
- HUEPER, W. C. and W. W. PAYNE, Carcinogenic studies on soot of coffee-roasting plants. *Arch. Path.* 69 (1960) 716.
- JÄRVI, O. and O. KEYRILÄINEN, On the cellular structures of the epithelial invasions in the glandular stomach of mice caused by intramural application of 20-methylcholanthrene. *Acta path. Scand. supp.* 111 (1955) 72.
- JÄRVI, O. and P. LAURÉN, On the role of heterotopias of the intestinal epithelium in the pathogenesis of gastric cancer. *Acta path. Scand.* 29 (1951) 26.
- JAMES, A. H., The physiology of gastric digestion. 1957. p. 132.
- JENNER, A. W. F., Pernicieuze anaemie en maagcarcinoom. Diss. Amsterdam, 1938.
- JENNER, A. W. F., Perniziöse Anämie und Magenkarzinom. *Acta med. Scand.* 102 (1939) 529.
- KAPLAN, H. S., Lesions of the gastric mucosa in Strong strain NHO mice. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 407.
- KAWEL, C. A. and H. TESLUK, Brunner-type glands in regional enteritis. *Gastroenterology*, 28 (1955) 810.
- KERKWIJK, C. J. van, Over het maagslijmvlies bij ulcus en bij carcinoom. Diss. Amsterdam, 1938.
- KLEIN, A. J. and W. L. PALMER, Experimental carcinoma of the stomach. *J. Nat. Cancer Inst.* 1 (1940) 583.
- KONJETZNY, G. E., Die Entzündungen des Magens, in: *Handb. d. spez. pathol. Anat. u. Histol.* v. Henke-Lubarsch Bd. IV 2 (1928) p. 840 e.v.
- KOSTER, M. en J. R. BLICKMAN, Maligne lymfoide gezwellen van de maag. *N.T.v.G.* 102 (1958) 573.
- KUPFFER, C., Epithel und Drüsen des Menschlichen Magens. Festschrift dem ärztlichen Verein München zur Feier seines fünfzig-jährigen Jubiläums gewidmet von seinen Mitgliedern, München, 1883. p. 27.
- LEBLOND, C. P., R. E. GLEGG and D. EIDINGER, Presence of carbohydrates with free 1,2-glycol groups in sites stained by the periodic acid-Schiff technique. *J. Histochem. Cytochem.* 5 (1957) 445.
- LEVY, I. S., The acute and chronic peptic lesions of the stomach and the duodenum. Diss. Utrecht, 1959.
- LIBER, A. F., Aberrant pyloric glands in regional ileitis. *Arch. Path.* 51 (1951) 205.
- LILLIE, R. D., Studies on the preservation and histologic demonstration of glycogen. *Bull. int. Ass. med. Mus.* 27 (1947) 23.
- LILLIE, R. D., Histochemical comparison of the Casella, Bauer and periodic acid oxidation-Schiff leucofuchsin technics. *Stain Technol.* 26 (1951) 123.

- LILLIE, R. D., *Histopathologic technic and practical histochemistry*. New York, 1954.
- LINDERSTRÖM-LANG, K. and K. R. MOGENSEN, *Studies on enzymatic histochemistry. XXXI: Histological control of histochemical investigations*. C. R. du Carlsberg Lab. Sér. Chim. 23 (1938) 27.
- LUSHBAUGH, C. C., *Infiltrating adenomatous lesions of stomach, cecum and rectum of monkeys, similar to early human carcinoma and carcinoma in situ*. Cancer Res. 9 (1949) 385.
- LUSHBAUGH, C. C., P. HARRIS and J. B. STORER, *A fatal adenomatous lesion of the stomach of mice exposed to neutrons from an atom bomb*. Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 2 (1955) 228.
- MC.MANUS, J. F. A., *Histological demonstration of mucin after periodic acid*. Nature, 158 (1946) 202.
- MC.PEACK, E. and SH. WARREN, *The pathology of gastric carcinoma in mice*. J. Nat. Cancer Inst. 7 (1947) 309.
- MADDEN, R. J., A. L. PIETROLUONGO and A. V. TORRE, *Acid and alkaline phosphatase activity in the human stomach*. Gastroenterology, 32 (1957) 1113.
- MAGNUS, H. A., *Observations on the presence of intestinal epithelium in the gastric mucosa*. J. Path. Bact. 44 (1937) 389.
- MAGNUS, H. A., *Gastritis*, in: *Modern trends in gastroenterology*, Butterworth, London, 1952, p. 323.
- MAGNUS, H. A., *A re-assessment of the gastric lesion in pernicious anaemia*. J. clin. Path. 11 (1958) 289.
- MANCINI, R. E., O. VILAR, E. STEIN and H. FIORINI, *A histochemical and radioautographic study of the participation of fibroblasts in the production of mucopolysaccharides in connective tissue*. J. Histochem. Cytochem. 9 (1961) 278.
- MANHEIMER, L. H. and A. M. SELIGMAN, *Improvement in the method for the histochemical demonstration of alkaline phosphatase and its use in a study of normal and neoplastic tissues*. J. Nat. Cancer Inst. 9 (1948/49) 181.
- MARKS, I. N. and H. SHAY, *Observations on the pathogenesis of gastric ulcer*. Lancet I. (1959) 1107.
- MAXIMOV, A. A. and W. BLOOM, *A textbook of histology*. Saunders, 1948, p. 393.
- MENZIES, G., *Further observations upon the oxyntic cells with special reference to acid phosphatase*. Quart. J. micr. Sci. 93 (1952) 259.
- MEYER, K., E. M. SMITH and J. W. PALMER, *On glycoproteins, III. The polysaccharides from pig gastric mucosa*. J. biol. Chem. 119 (1937) 73.
- MICHALANY, J., *Contribuição ao estudo da histogênese e patogênese do epitélio intestinal heterotópico na mucosa gástrica*. Diss. São Paulo. 1956.
- MICHALANY, J., *Metaplasia intestinal da mucosa gastrica*. Rev. Ass. méd. brasil, 5 (1959) 25.
- MONIS, B., M. M. NACHLAS and A. M. SELIGMAN, *Histochemical observations on leucine aminopeptidase activity in diseased tissues*. J. Histochem. Cytochem. 6 (1958) 395.
- MONIS, B., M. M. NACHLAS and A. M. SELIGMAN, *Study of leucine aminopeptidase in neoplastic and inflammatory tissues with a new histochemical method*. Cancer, 12 (1959) 601.
- MONIS, B. and A. M. RUTENBURG, *Alkaline phosphatase activity in neoplastic and inflammatory tissues of man*. Cancer, 13 (1960) 538.
- MONIS, B. and T. WEINBERG, *Cytochemical study of esterase activity of human neoplasms and stromal macrophages*. Cancer, 14 (1961) 369.
- MORSON, B. C., *Intestinal metaplasia of the gastric mucosa*. Brit. J. Cancer, 9 (1955) 365.
- MORSON, B. C., *Carcinoma arising from areas of intestinal metaplasia in the gastric mucosa*. Brit. J. Cancer, 9 (1955) 377.

- MORSON, B. C., Gastric polyps composed of intestinal epithelium. *Brit. J. Cancer*, 9 (1955) 550.
- MORSON, B. C., Intestinal metaplasia of the gastric mucosa. *Gastroenterologia*, 85 (1956) 181.
- MORSON, B. C., Intestinal metaplasia of the gastric mucosa. *Gastroenterologia*, 86 (1956) 353.
- MOSZKOWICZ, L., Zur Histologie des ulcusbereiten Magens. *Arch. klin. Chir.* 122 (1923) 444.
- MÜLLER, W., Astrablau zur Darstellung des sogenannten Neurosekrets. *Laboratoriums Blätter*, 7 (1957) 39.
- MULLIGAN, R. M. and R. R. REMBER, Histogenesis and biologic behavior of gastric carcinoma; study of 138 cases. *Arch. Path.* 58 (1954) 1.
- NACHLAS, M. M. and A. M. SELIGMAN, The histochemical demonstration of esterase. *J. Nat. Cancer Inst.* 9 (1948/49) 415.
- NACHLAS, M. M., K. C. TSOU, E. DE SOUZA, C. S. CHENG and A. M. SELIGMAN, Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.* 5 (1957) 420.
- NACHLAS, M. M., D. G. WALKER and A. M. SELIGMAN, A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase. (a) *J. biophys. biochem. Cytol.* 4 (1958) 29.
- NACHLAS, M. M., D. G. WALKER and A. M. SELIGMAN, The histochemical localization of triphosphopyridine nucleotide diaphorase. (b) *J. biophys. biochem. Cytol.* 4 (1958) 467.
- NIEMI, M., M. SIURALA and M. SUNDBERG, The distribution of cytochemically demonstrable diphosphopyridine nucleotide diaphorase and succinic and lactic dehydrogenases in the normal human gastric mucosa. *Acta path. Scand.* 48 (1960) 323.
- NOWELL, P. C., L. J. COLE and M. E. ELLIS, Neoplasms of the glandular stomach in mice irradiated with X-rays or fast neutrons. *Cancer Res.* 18 (1958) 257.
- OETTLÉ, A. G., Spontaneous carcinoma of the glandular stomach in *Rattus (mastomys) Natalensis*, an African rodent. *Brit. J. Cancer*, 11 (1957) 415.
- OETTLÉ, A. G., B. DE MEILLON and B. LARER, Carcinomas of the glandular stomach and hepatomas in *Rattus (mastomys) Natalensis* infected with *Bilharzia Mansoni*. *Acta Unio int. contra cancerum*, 15 (1959) 200.
- PADYKULA, H. A., The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. *Am. J. Anat.* 91 (1952) 107.
- PADYKULA, H. A. and E. HERMAN, Factors affecting the activity of adenosinetriphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. *J. Histochem. Cytochem.* 3 (1955) 161.
- PADYKULA, H. A. and E. HERMAN, The specificity of the histochemical method for adenosinetriphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.* 3 (1955) 170.
- PALMER, E. D., Histology of the normal gastric mucosa: an investigation into the state of normalcy of the stomach of persons without upper gastrointestinal complaints. *Gastroenterology*, 21 (1952) 12.
- PASCHKIS, K. und V. ORATOR, Beiträge zur Normalhistologie des menschlichen Magens. (Versuch einer Histotopographie). *Z. ges. Anat.* 1e Abt. 67 (1923) 494.
- PATERSON, J. C. and S. H. WATSON, Paneth cell metaplasia in ulcerative colitis. *Am. J. Path.* 38 (1961) 243.
- PEACOCK, P. R., S. BECK and J. G. CHALMERS, Gastric cancer: possible dietary carcinogens. *J. Nat. Cancer Inst.* 13 (1953) 931.
- PEARSE, A. G. E., *Histochemistry, Theoretical and Applied*; 2nd. ed. London, 1960.
- PEARSON, B. and V. DEFENDI, A comparison between the histochemical demonstration of non-specific esterase activity by 5- bromoindoxylacetate, α -naphthylacetate and naphthol AS acetate. *J. Histochem. Cytochem.* 5 (1957) 72.

- PINEDA, E. P., J. A. GOLDBARG, B. M. BANKS and A. M. RUTENBURG, Serum leucine aminopeptidase in pancreatic and hepatobiliary diseases. *Gastroenterology*, 38 (1960) 698.
- PROCH, W., Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau. *Virchows Arch. path. Anat.* 330 (1957) 337.
- PLANTEYDT, H. T. and R. G. J. WILLIGHAGEN, Enzyme histochemistry of the human stomach, with special reference to intestinal metaplasia. *J. Path. Bact.* 80 (1960) 317.
- RÄSÄNEN, T., Tissue eosinophils and mast cells in the human stomach wall in normal and pathological conditions. *Acta path. Scand. Suppl.* 129 (1958).
- REINER, L. R., A. M. RUTENBURG and A. M. SELIGMAN, Acid phosphatase activity in human neoplasms. *Cancer*, 10 (1957) 563.
- RINEHART, J. F. and S. K. ABUL-HAJ, Improved method for histologic demonstration of acid mucopolysaccharides in tissues. *Arch. Path.* 52 (1951) 189.
- ROFFO, A. H., Bildung von Geschwüren und bösartigen Geschwülsten im Verdauungsapparat durch Einführung von Nahrung mit bestrahltem Cholesterin. *Z. Krebsforschung*, 47 (1938) 473.
- ROMEIS, B., *Mikroskopische Technik*. München, 1948.
- ROSEMAN, D. M., D. SIMON and M. H. SLEISENGER, The concentration and distribution of acid phosphatase in the human stomach with particular reference to gastric carcinoma. *Gastroenterology*, 36 (1959) 589.
- ROSENHOLTZ, M. and L. W. WATTENBERG, Morphologic histochemical aminopeptidase. *Arch. Path.* 70 (1961) 63.
- RUTENBURG, A. M., J. A. GOLDBARG and E. P. PINEDA, Leucine aminopeptidase activity; observations in patients with cancer of the pancreas and other diseases. *New Engl. J. Med.* 259 (1958) 469.
- RUTENBURG, A. M., B. MONIS and B. M. BANKS, Histochemical distribution of hydrolytic enzymes in the alimentary tract in man in health and disease. *J. Histochem. Cytochem.* 6 (1958) 102.
- SALMON, W. D. and D. H. COPELAND, The occurrence of gastric lesions in the rat as a result of feeding tributyrin. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 361.
- SCHADE, R. O. K., The morbid anatomy of peptic ulceration. *Schweiz. Z. Path. Bakt.* 21 (1958) 372.
- SCHARRER, B., Gastric cancer experimentally induced in insects by nerve severance. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 375.
- SCHIEDEGGER, S., Beiträge zur Histopathologie der Gastritis und zur Frage der Epitheltypen der Magenmucosa. *Gastroenterologia*, 92 (1959) 367.
- SCHENKER, S., Lactic dehydrogenase activity in gastric juice in the diagnosis of gastric cancer; a preliminary report. *Am. J. dig. dis.* 4 (1959) 412.
- SCHINDLER, R., *Gastritis*. New York, 1947, p. 135.
- SCHINDLER, R., H. NECHELES and R. L. GOLD, Surgical gastritis; a study on the genesis of gastritis found in resected stomachs with particular reference to the so called „antral gastritis“ associated with ulcer. *S.G.O.* 69 (1939) 281.
- SCHMIDT, A., Untersuchungen über das menschliche Magenepithel unter normalen und pathologischen Verhältnissen. *Virchows Arch. path. Anat.* 143 (1896) 477.
- SCHOLL, O. und G. RUDOLPH, Untersuchungen über den Fermentgehalt von Karzinomen des Magen-Darmkanals. *Beitr. path. Anat.* 119 (1958) 316.
- SCHORNAGEL, H. E., The relationship between gastric ulcer and carcinoma; the frequency of gastric ulcers during and after World War II. *Doc. Med. Geogr. Trop.* 7 (1955) 22.
- SHARPLES, W., A note on the relatively high number of argentaffin cells in the mucosa of the human stomach. *Anat. Rec.* 91 (1945) 237.
- SHAY, H., D. C. H. SUN and H. SIPLET, Leucine aminopeptidase; Significance of

- serum elevations in disease of the hepato-biliary-pancreatic system. *Am. J. dig. dis.*, 5 (1960) 217.
- SIURALA, M., Pathology of atrophic gastritis. *Ann. Med. intern. Fenn.* 45 (1956) 67.
- SIURALA, M. and M. SUNDBERG, Occurrence of mast cells in the gastric mucosa under normal and pathological conditions. *Ann. Med. exp. et biol. Fenn.* 36 (1958) 271.
- SKORYNA, S. C. and D. R. WEBSTER, Factors affecting experimental production of gastric cancer. 7th International Cancer Congress, 1958.
- SMITH, F. W. and L. C. STRONG, Studies on gastric neoplasia in mice. The histogenesis and influence of some endocrine factors. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 423.
- SOMMERS, S. C. and G. A. BOUGHTON, Relation of gastric epithelial hyperplasia to carcinoma. *Am. J. Path.* 34 (1958) 554.
- STARK, M. B., Histogenetic variation of undifferentiated germinal cells of gastric mucosa. *S.G.O.* 104 (1957) 416.
- STEWART, H. L., Experimentally induced cancer of the stomach. *Proc. World Congr. Gastroenterology II* (1958) 1142.
- STEWART, H. L. and H. B. ANDERVONT, Pathologic observations on the adenomatous lesion of the stomach in mice of strain I. *Arch. Path.* 26 (1938) 1009.
- STEWART, H. L., W. V. HARE and J. G. BENNETT, Tumors of the glandular stomach induced in mice of six strains by intramural injection of 20-methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 14 (1953) 105.
- STEWART, H. L., W. V. HARE, E. LORENZ and J. G. BENNETT, Adenocarcinoma and other lesions of the glandular stomach of mice, following intramural injection of 20-methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 10 (1949/50) 359.
- STEWART, H. L. and E. LORENZ, Induction of adenocarcinoma of the pyloric stomach in mice by methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 2 (1941) 193.
- STEWART, H. L. and E. LORENZ, Adenocarcinoma of the pyloric stomach and other gastric neoplasms in mice induced with carcinogenic hydrocarbons. *J. Nat. Cancer Inst.* 3 (1942) 175.
- STEWART, H. L., K. C. SNELL and W. V. HARE, Histopathogenesis of carcinoma induced in the glandular stomach of C 57 Bl. mice by the intramural injection of 20-methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer Inst.* 21 (1958) 999.
- STOERK, O., Ueber Gastritis chronica. *Wien. klin. Wschr.* 35 (1922) 855.
- STÖHR, P., W. VON MÖLLENDORF und K. GOERTTLER, *Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Jena 1955, p. 292.
- STRONG, L. C., Genetic analysis of the induction of tumors by methylcholanthrene IX. Induced and spontaneous adenocarcinoma of the stomach of mice. *J. Nat. Cancer Inst.* 5 (1945) 339.
- SUGIMACHI, R., Experimental study of carcinoma of the glandular stomach of mice. (Japanese tekst). *Igaku Kenkyu*, 29 (1959) 2034.
- TAKAMATSU, H., Histochemische Untersuchungsmethodik der Phosphatase und deren Verteilung in verschiedenen Organen und Geweben. *Transact. Soc. Path. Jap.* 29 (1939) 492.
- TORGENSEN, O. and E. MYHRE, Experimental adenocarcinoma of the stomach. A tentative „multifactor” approach. *Acta. Unio int. contra cancerum*, 15 (1959) 696.
- VILLARREAL, R. and M. H. BURGOS, A correlated biochemical and histochemical study of succinic dehydrogenase activity in the gastric mucosa of the rat and frog. *J. cell. comp. Physiol.* 46 (1955) 327.
- VOLLRATH, L., Über Entwicklung und Funktion der Belegzellen der Magendrösen. *Z. Zellforsch.* 50 (1959) 36.
- WACHSTEIN, M., M. BRADSHAW and J. ORTIZ, Voordracht voor: 12th Annual Meeting of the Histochemical Society, April 1961, wordt nog gepubliceerd in: *J. Histochem. Cytochem.*

- WACHSTEIN, M. and E. MEISEL, Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH. *Am. J. clin. Path.* 27 (1957) 13.
- WATSON, A. J. and A. D. ROY, Paneth cells in the large intestine in ulcerative colitis. *J. Path. Bact.* 80 (1960) 309.
- WATTENBERG, L. W., Histochemical study of aminopeptidase in metaplasia and carcinoma of the stomach. *Arch. Path.* 67 (1959) 281.
- WELLS, H. G., M. SLYE and H. F. HOLMES, Comparative pathology of cancer of alimentary canal, with report of cases in mice: studies in incidence and inheritability of spontaneous tumors in mice. *Am. J. Cancer*, 33 (1938) 223.
- WILLIGHAGEN, R. G. J., Voordelen van de cryostaat voor het maken van vriescoupes van ongefieerd weefsel. *N.T.v.G.* 103 (1959) 697.
- WILLIGHAGEN, R. G. J., Het maken van vriescoupes met behulp van een cryostaat. *N.T.v.G.* 103 (1959) 1245.
- WILLIGHAGEN, R. G. J., Histochemisch onderzoek van enzymen in gezwellen. *N.T.v.G.* 103 (1959) 2522.
- WILLIGHAGEN, R. G. J., Histochemisch onderzoek van de activiteit van alkalische en zure fosfatase in normaal en in pathologisch veranderd menselijk weefsel. Diss. Leiden 1960.
- WILLIGHAGEN, R. G. J., Histochemisch onderzoek van enzymen in gezwellen. *N.T.v.G.* 105 (1961) 412.
- WILLIGHAGEN, R. G. J. en P. VAN DUYN, Zure fosfatase in muizelever na toediening van dextran. *N.T.v.G.* 102 (1958) 1122.
- WILLIGHAGEN, R. G. J. and H. T. PLANTEYDT, Aminopeptidase activity in cancer cells. *Nature*, 183 (1959) 263.
- WYNN WILLIAMS, A., N. F. COGILL and F. EDWARDS, The gastric mucosa in pernicious anemia: biopsy studies. *Brit. J. Haemat.* 4 (1958) 457.
- ZALDIVAR, R. S. D., Induction of infiltrating adenomatous lesions of the stomach in guinea pigs. *Naturwissenschaften*, 46 (1959) 113.

AANHANGSELS

AANHANGSEL I.

Gedetailleerde bevindingen bij het histochemisch onderzoek van de normale maag

ENZYMKLEURINGEN

Alkalische fosfatase wordt in het endotheel van de capillairen en van de andere kleinere bloedvaten in alle lagen van de maagwand gevonden. Overigens is het stroma negatief, behalve in de omgeving van de lymffollikels en de periferie van deze follikels, waar een duidelijke activiteit aanwezig is. Het reactiecentrum zelf vertoont echter geen activiteit, behalve in het endotheel van de enkele aanwezige capillairen. Het oppervlakte-epitheel, de mucoide nevecellen, de hoofdcellen en de dekcellen, de cardiaklieren en de praepylorische klieren, kortom alle epitheliale cellen in de maag vertonen geen activiteit.

In enkele preparaten vertoont enig slijm in de maaginhoud een sterke zwarting. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum vertoont een sterke activiteit, die duidelijk gelocaliseerd is in twee verschillende gebieden van de cellen: als een doorlopende zwarte lijn in het gebied van de borstelzoom en, veel zwakker, in het gebied van het Golgi-systeem, ongeveer halverwege tussen de borstelzoom en de kern. Ook in het stroma van de mucosa wordt een duidelijke activiteit in het cytoplasma van de cellen gevonden. De klieren van Brunner vertonen geen activiteit, evenmin het tussen deze klieren gelegen stroma. De muscularis mucosae, het submukeuse bindweefsel en de muscularis vertonen geen activiteit. Ook de zenuwcellen vertonen geen activiteit.

Zure fosfatase wordt op veel meer plaatsen in de maag gevonden. De cardiaklieren zijn, evenals de praepylorische klieren duidelijk positief. De activiteit wisselt hier vaak van cel tot cel en is vaak apicaal gelocaliseerd. Het oppervlakte-epitheel vertoont in het apicale deel van de cellen een zwakke activiteit. Ook de mucoide nevecellen zijn zwak positief. De hoofdcellen zijn sterk positief, terwijl de dekcellen opvallen door het ontbreken van enzymactiviteit.

Voor al in de diepere lagen van de mucosa is dit fraai zichtbaar. Het stroma van de mucosa is positief; hierin vallen vele, regelmatig verspreid liggende, cellen op, die een zeer hoge activiteit vertonen. Waarschijnlijk zijn dit histiocytair cellen. De endotheelcellen van de bloedvaten vertonen een zwakke enzymactiviteit, die hier echter, in tegenstelling tot wat wij zagen bij de alkalische fosfatasekleuring, nauwelijks opvalt te midden van de vele structuren met een duidelijke activiteit. De wanden van de grotere bloedvaten vertonen een matige activiteit. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum vertoont een hoge activiteit. Deze activiteit is in alle onderzochte gevallen duidelijk hoger dan de activiteit in het oppervlakte-epitheel van de maag. In het duodenale epitheel wordt de activiteit gevonden in de vorm van kleinere en grotere, deels bruine, deels zwarte bolletjes in het apicale deel van de cellen. Er is geen scherpe grens ten opzichte van de rest van het cytoplasma. Het stroma vertoont ook hier een zeer hoge activiteit met verspreid enkele histiocyten, die een zeer hoge activiteit vertonen. De klieren van Brunner vertonen een enigszins wisselende, doch in het algemeen een hoge tot zeer hoge enzymactiviteit. Deze activiteit is hoger dan die van de praepylorische klieren.

Het stroma rondom de klieren van Brunner is slechts zeer zwak positief. De in enkele preparaten aanwezige maaginhoud kleurt matig positief. De muscularis mucosae en de muscularis kleuren slechts zwak positief. Alleen de zenuwcellen vallen op door een iets hogere activiteit.

5-Nucleotidase toont weer een geheel andere localisatie. De cardiaklieren en de praepylorische klieren tonen een geringe activiteit. Het oppervlakte-epitheel, de mucoide nevencellen, de hoofdcellen en de dekcellen zijn negatief. Het stroma is, vooral in de basale lagen van de mucosa in het praepylorische gebied, positief.

In het corpus worden in het stroma slechts enkele positieve cellen gevonden en dan nog vooral in de oppervlakkige lagen. Ook het endotheel van de capillairen en de grotere bloedvaten toont een duidelijke activiteit. Het spierweefsel van de muscularis mucosae en van de buitenste laag van de muscularis toont een hoge activiteit, terwijl de spierwand van de arterietakjes en van de binnenste laag van de muscularis een veel lagere activiteit toont. Opvallend is nog dat het direct tegen de submucosa aangelegen deel van de muscularis weer een wat hogere activiteit toont. Dit wordt in alle onderzochte preparaten als een constant verschijnsel gezien. De zenuwcellen en de zenuwen tonen geen activiteit. De lymffollikels tonen een duidelijke activiteit, waarbij het centrale deel van het reactiecentrum zich sterker kleurt dan het perifere deel, terwijl in het lymfatische weefsel rondom het reactiecentrum weer een hogere activiteit gevonden wordt. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum toont een zeer hoge activiteit in het gebied van de borstelzoom. Het stroma vertoont hier hetzelfde beeld als in het praepylorische gebied. De klieren van Brunner tonen een iets hogere activiteit dan de praepylorische klieren. Deze activiteit is vooral in het apicale deel van de cellen gelocaliseerd. De muscularis mucosae, die in het gebied van de Brunnerse klieren vaak moeilijk te volgen is, is in deze preparaten juist zeer fraai zichtbaar door zijn intense bruine kleur.

Adenosinetrifosfatase is in de cardiaklieren niet aantoonbaar. In het corpusgebied wordt het beeld beheerst door een duidelijke activiteit in het cytoplasma van de dekcellen, waarvan de kernen vaak fraai als uitsparingen te zien zijn. In het oppervlakte-epitheel, de mucoide nevencellen en de hoofdcellen wordt geen activiteit gevonden, terwijl ook de praepylorische klieren negatief zijn. In het stroma tonen vrijwel alle cellen een duidelijke activiteit; deze activiteit is het sterkst in de oppervlakkige lagen van de mucosa.

Het endotheel en de spierwand van de grotere vaten zijn sterk positief. In de lymffollikels is het reactiecentrum negatief, behalve het endotheel van de capillairen, terwijl het lymfatische weefsel erom heen duidelijk positief is. De muscularis mucosae is sterk positief. Evenals in de 5-nucleotidasekleuring is ook hier de muscularis mucosae in het duodenum tussen de klieren van Brunner fraai te volgen. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum is sterk positief in het gebied van de borstelzoom. De klieren van Brunner zijn negatief. Het stroma van de mucosa van het duodenum vertoont een lagere activiteit dan dat van het maagslijmvlies. De zenuwbundels en het cytoplasma van de ganglioncellen vertonen een zeer hoge activiteit. Vooral de plexus myentericus valt zeer duidelijk op temidden van de matig sterk positieve muscularis. De kernen van de ganglioncellen zijn als uitsparingen te zien.

Niet-specifieke esterase, bepaald met de α -naphthylacetaatmethode, wordt in de cardiaklieren slechts in geringe mate gevonden, in de vorm van slechts enkele zwarte korreltjes in het cytoplasma. Het cytoplasma van het oppervlakte-epitheel van de maag is diffuus sterk positief, in de kernen wordt geen activiteit gevonden en deze zijn als uitsparingen te zien. In de foveolae tonen de cellen een wat minder hoge activiteit, die vooral gelocaliseerd is in het apicale deel van het cytoplasma. De mucoide nevencellen zijn zwak positief. Zowel de hoofdcellen als de dekcellen zijn sterk positief en vertonen onderling soms wisselende verschillen, in die zin, dat in het ene preparaat de hoofdcellen iets sterker positief lijken dan de dekcellen, terwijl in een ander preparaat eerder het omgekeerde het geval lijkt te zijn. In het stroma komen verspreid duidelijk positieve cellen voor, waarschijnlijk histiocyten; overigens is het stroma vrijwel negatief. In het reactiecentrum van de lymffollikels

komen verspreid enkele sterk positieve cellen voor. Overigens zijn de lymffollikels geheel negatief. De praepylorische klieren vertonen slechts een zwakke activiteit. Het endotheel van de capillairen en de spierwand van de bloedvaten is negatief. De muscularis mucosae vertoont slechts een geringe activiteit. In de muscularis is de activiteit nog zwakker; hier springen echter de ganglioncellen van de plexus myentericus direct in het oog door hun hoge activiteit. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum is sterk positief; de enzymactiviteit is hier in alle onderzochte preparaten hoger dan in het oppervlakte-epitheel van de maag. De activiteit is niet beperkt tot het gebied van de borstelzoom maar wordt in het hele apicale gebied gevonden. De klieren van Brunner zijn enigszins wisselend, zwak tot matig positief. Het stroma is slechts zeer zwak positief.

Niet-specifieke esterase, bepaald met de *broomindoxylacetaatmethode* vertoont in grote trekken een overeenkomstige localisatie. Het neerslag is echter groter van korrel dan met de vorige methode, waardoor de localisatie in het algemeen minder nauwkeurig is. De cardiaklieren zijn zwak tot zeer zwak positief. In de uitvoergangen tonen de cellen apicaal in het cytoplasma een geringe activiteit. Het oppervlakte-epitheel is duidelijk positief, vaak vooral apicaal in het cytoplasma. In het stroma van de mucosa komen verspreid enkele positieve cellen voor. De mucoïde neven-cellen zijn zwak positief, terwijl de hoofdcellen en de dekcellen sterk positief zijn. Vooral de hoofdcellen zijn vaak zeer sterk positief, daarbij treedt soms enige diffusie van het neerslag op. De praepylorische klieren zijn wisselend, doch in het algemeen zwak tot zeer zwak positief. De bloedvaten zijn geheel negatief. De muscularis mucosae en de muscularis zijn eveneens negatief. De ganglioncellen vallen daardoor ook hier weer op met een duidelijke enzymactiviteit. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum toont, vooral in het apicale deel van het cytoplasma een hoge activiteit. De vacuolen in de bekerzellen zijn fraai uitgespaard. De klieren van Brunner tonen een zeer wisselend beeld: sommige groepen klierbuizen zijn duidelijk positief, andere zijn zwak positief of zelfs geheel negatief. Het stroma van de mucosa van het duodenum is negatief.

In de lymffollikels komen verspreid in het reactiecentrum enkele positieve cellen voor, overigens zijn de follikels geheel negatief.

Leucine aminopeptidase wordt in de normale maag nergens duidelijk gevonden. De dekcellen tonen een vage oranje-bruine tint, die echter ook gevonden wordt, wanneer het enzym tevoren geïnactiveerd is door de coupe te koken. De sterke roodkleuring in het apicale deel van het oppervlakte-epitheel van het duodenum, die wijst op een hoge enzymactiviteit, is na het koken van de coupe wel verdwenen. Dit wijst er op, dat er geen sprake is van echte activiteit van aminopeptidase in de dekcellen, doch dat hier waarschijnlijk een specifieke adsorptie van een der gebruikte kleurstoffen plaats vindt. De cardiaklieren, het oppervlakte-epitheel, de hoofdcellen, de mucoïde neven-cellen, de praepylorische klieren, het stroma, de bloedvaten, de spierlagen, de zenuwen, de lymffollikels en in het duodenum de klieren van Brunner en het stroma van de mucosa zijn volledig negatief. In sommige preparaten worden in het stroma en de submucosa verspreid enkele zwak positieve cellen gevonden; dit zouden mestcellen kunnen zijn. De zeer hoge activiteit in het apicale deel van de cellen van het oppervlakte-epitheel van het duodenum werd zojuist reeds genoemd; ook hier zijn de vacuolen van de bekerzellen als uitsparingen zichtbaar.

Barnsteen-zuurdehydrogenase wordt in alle epitheliale cellen in de maag gevonden. Het meest opvallende is echter de zeer hoge activiteit in de dekcellen. De hoofdcellen zijn, evenals het oppervlakte-epitheel en de mucoïde neven-cellen zwak positief.

In het oppervlakte-epitheel is de activiteit grotendeels in de meer basale delen van het cytoplasma gelocaliseerd, in de mucoïde neven-cellen daarentegen meer apicaal. In de praepylorische klieren wordt een matig sterk, meestal nogal grofkorrelig neerslag gevonden. In het stroma komen verspreid enkele positieve cellen voor, vooral in

de oppervlakkige lagen. Het endotheel van de bloedvaten is negatief. De spierwand van de bloedvaten, de muscularis mucosae en de muscularis zijn zwak positief. Ook hier vallen de ganglioncellen weer op door een duidelijke activiteit. De zenuwvezels zijn echter negatief. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum vertoont een hoge activiteit, die voornamelijk gelocaliseerd is in het apicale deel van het cytoplasma. Deze activiteit is duidelijk hoger dan in het oppervlakte-epitheel van de maag. De klieren van Brunner zijn zwak positief, terwijl het stroma van het duodenumslimvlies negatief is. In de lymffollikels worden in de reactiecentra verspreid enkele positieve cellen gevonden; overigens zijn de follikels negatief.

Melkzuurdehydrogenase en *DPNH-diaphorase* tonen geheel dezelfde localisaties. De cardiaklieren tonen een duidelijke activiteit van de enzymen. Het oppervlakte-epitheel en de mucoide nevencellen zijn slechts zwak positief. Ook hier vallen de dekcellen op door een tamelijk hoge activiteit. De hoofdcellen zijn minder sterk positief dan de dekcellen, doch sterker positief dan de mucoide nevencellen en het oppervlakte-epitheel. Ook hier zijn de kernen fraai uitgespaard. Het stroma is diffuus zwak positief. De praepylorische klieren zijn matig sterk positief, ongeveer even sterk als de hoofdcellen. Het endotheel van de bloedvaten is negatief. De spierwand van de grotere bloedvaten vertoont wel een duidelijke enzymactiviteit. De muscularis en de muscularis mucosae zijn beide slechts zwak positief. Het cytoplasma van de ganglioncellen is sterk positief, terwijl de zenuwvezels slechts zwak positief zijn. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum is duidelijk positief, vooral in het apicale deel van het cytoplasma. De klieren van Brunner vertonen een matig sterke enzymactiviteit, die in sterkte ongeveer overeenkomt met die van de praepylorische klieren. Het stroma van het duodenumslimvlies is zwak positief. De lymffollikels tonen diffuus slechts een zwakke activiteit, die ongeveer even sterk is als die van het omgevende stroma. Cellen met een sterkere activiteit worden in de follikels niet gevonden.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase is in de cardiaklieren vrijwel niet aantoonbaar. Het oppervlakte-epitheel toont, vooral in het basale deel van het cytoplasma onder de kern, een zwakke activiteit. De mucoide nevencellen en de hoofdcellen tonen eveneens een zwakke activiteit, die juist iets sterker is dan die van het stroma. De dekcellen zijn sterk positief. De praepylorische klieren zijn slechts zwak positief, eveneens juist iets sterker dan het omgevende stroma. Het endotheel van de bloedvaten is negatief. De spierwand van de grotere bloedvaten, de muscularis mucosae en de muscularis zijn zwak positief. Ook hier vallen de ganglioncellen weer op door een hoge enzymactiviteit, terwijl de zenuwvezels slechts zwak positief zijn. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum is sterk positief, vooral in het apicale deel van het cytoplasma. De klieren van Brunner tonen een matig sterke activiteit. Het stroma van het duodenumslimvlies is zwak positief. De lymffollikels tonen ook hier slechts een zwakke activiteit, die overeenkomt met die van het stroma, waardoor de lymffollikels nauwelijks zichtbaar zijn.

Isocitroenzuurdehydrogenase wordt in de cardiaklieren niet aangetoond, behalve in de uitvoergangen, die een zwakke enzymactiviteit vertonen. Het oppervlakte-epitheel is zwak tot matig sterk positief, vooral in het apicale deel van het cytoplasma. De mucoide nevencellen, de hoofdcellen en de praepylorische klieren tonen een zwakke activiteit. De dekcellen daarentegen tonen een duidelijke activiteit, die sterker is dan die van de mucoide nevencellen en hoofdcellen, doch iets zwakker dan die van het oppervlakte-epitheel. Het stroma is slechts zeer zwak positief, verspreid komen enkele cellen voor, die een duidelijke activiteit tonen. Het endotheel van de bloedvaten is zwak positief. De spierwand van de bloedvaten is matig sterk positief, de muscularis mucosae is vrijwel negatief en de muscularis is negatief. Ook hier zijn de ganglioncellen weer sterk positief, terwijl in de zenuwvezels geen activiteit aantoonbaar is. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum vertoont, vooral in het apicale deel van het cytoplasma een hoge activiteit; de activiteit is hier duidelijk

hoger dan in het oppervlakte-epitheel van de maag. De klieren van Brunner zijn zwak positief, terwijl het stroma van het duodenumslimvlies slechts zeer zwak positief is. De lymffollikels zijn zwak positief, verspreid komen enkele duidelijk positieve cellen voor.

Glucose 6-fosfaat dehydrogenase wordt in de cardiaklieren alleen in de uitvoergangen gevonden, waar een zwakke activiteit aantoonbaar is. Het oppervlakte-epitheel is duidelijk positief, vooral in het apicale deel van het cytoplasma; diep in de foveolae is de activiteit duidelijk zwakker. De mucoïde nevencellen, de hoofdcellen en de praepylorische klieren zijn zwak positief. De dekcellen zijn sterk positief. Het stroma is slechts zeer zwak positief. Het endotheel van de bloedvaten toont geen enzymactiviteit. De spierwand van de grotere bloedvaten is zwak positief, de *muscularis mucosae* en de *muscularis* slechts zeer zwak positief. De ganglioncellen tonen een duidelijke activiteit, terwijl de zenuwvezels negatief zijn. Het oppervlakte-epitheel van het duodenum is sterk positief, vooral in het apicale deel van het cytoplasma; ook nu is deze activiteit weer duidelijk hoger dan die in het oppervlakte-epitheel van de maag. De klieren van Brunner zijn zwak positief, terwijl het stroma van het duodenumslimvlies slechts zeer zwak positief is. De lymffollikels tonen slechts een zwakke activiteit; verspreid komen enkele positieve cellen voor.

Het reactiecentrum is nog zwakker positief dan het omgevende lymfatisch weefsel.

Slijmkleuringen:

De *P.A.S. (perjoodzuur Schiff)* kleuring is in het cytoplasma van de cellen van de cardiaklieren sterk positief.

De vacuolen vallen op doordat deze iets minder sterk gekleurd zijn. Het cytoplasma van de cellen van de uitvoergangen is veel minder sterk positief; hier is vooral het apicale deel positief. In het cytoplasma van het *oppervlakte-epitheel* worden zeer vele sterk positieve granulae gevonden, die zeer dicht opeen liggen en de celgrenzen in het perinucleaire gebied vrijlaten. Dieper in de foveolae worden deze granulae vooral apicaal in de cellen gevonden.

De *mucoïde nevencellen* hebben een vlekkelig positief cytoplasma; de intensiteit van de kleur is hier duidelijk minder dan in het oppervlakte-epitheel. De hoofdcellen en dekcellen zijn *P.A.S.-negatief*.

De cellen in de diepere delen van de *praepylorische* klieren hebben een vlekkelig positief cytoplasma, terwijl in de epitheelcellen van de uitvoergangen apicaal in het cytoplasma vele sterk positieve korrels worden gevonden, waardoor een geleidelijke overgang naar het oppervlakte-epitheel ontstaat. De *argentaaffiene* cellen zijn *P.A.S.-negatief*.

In de *submucosa* kleurt het gladde spierweefsel van de bloedvaten zwak positief, evenals de mestcellen en de leucocyten. De *muscularis* is ook zwak positief. Het cytoplasma van de cellen van de klieren van Brunner is vlekkelig sterk positief met talrijke vacuolen, die iets minder sterk positief zijn. Het beeld wisselt, doordat soms in een buisje enkele cellen duidelijk minder sterk positief zijn naast andere cellen, die een zeer sterk positief cytoplasma hebben. De klieren van Brunner zijn in het algemeen sterker *P.A.S.-positief* dan de praepylorische klieren.

De *P.A.S. kleuring na diastase voorbehandeling* toont hetzelfde beeld. Alleen de plaveiselcellen van het slokdarmepitheel zijn nu negatief, terwijl in de gewone *P.A.S. kleuring* hier positieve korrels worden gevonden.

De *P.A.S. kleuring na voorbehandeling met natronloog* toont eveneens hetzelfde beeld, doch de intensiteit in de kleur is in het algemeen hoger. De cardiaklieren zijn sterk positief, evenals de praepylorische klieren; de klieren van Brunner zijn echter ook nu nog sterker positief dan de praepylorische klieren. De mucoïde nevencellen zijn nu ook fraai positief.

De *chroomzuur Schiffkleuring* (Bauer-Feulgen) kleurt het cytoplasma van de cellen

van de cardiaklieren zwak positief, het oppervlakte-epitheel duidelijk positief, de mucoïde nevencellen slechts zeer zwak positief en de praepylorische klieren wisselend, doch altijd zwak positief. De klieren van Brunner zijn duidelijk positief, terwijl de hoofdcellen en dekcellen negatief zijn.

De kaliumpermanganaat Schiff kleuring toont geen fraaie beelden, doordat vrijwel alle structuren enigszins kleuren. De mucoïde nevencellen, dekcellen, hoofdcellen en glad spierweefsel kleuren zich ongeveer even sterk als de andere structuren. Alleen de cardiaklieren, het oppervlakte-epitheel en de klieren van Brunner kleuren duidelijk positief. De praepylorische klieren zijn zwak positief en steken nauwelijks af tegen hun omgeving.

In de methenaminezilverkleuring worden in het cytoplasma van de argentaffine cellen zeer vele en zeer dicht opeengelegene, sterk argentaffine korrels gevonden. In de cardiaklieren en in de corpusklieren worden verspreid slechts enkele argentaffine cellen gevonden, in het praepylorische gebied zijn dit er wat meer. De erythrocyten kleuren bruin, terwijl alle andere structuren geheel negatief zijn.

De perjoodzuur methenaminezilver kleuring geeft een geheel ander beeld. Ook hier zijn de argentaffine cellen duidelijk positief, zij het wat minder intensief en vaak wat bruin gekleurd. Bovendien is hier echter het cytoplasma van vele epitheelcellen gekleurd: de cardiaklieren hebben een donker grijs cytoplasma, het oppervlakte-epitheel is licht grijs, terwijl de klieren van Brunner donker grijs van tint, doch iets wisselend en vlekkelig van aspect zijn. De hoofdcellen en dekcellen zijn negatief. Het collageen bindweefsel is sterk positief (zwart), terwijl de erythrocyten, evenals met de vorige kleuring bruin getint zijn.

De alcian-blue kleuring geeft weer een geheel ander beeld: het oppervlakte-epitheel, de hoofdcellen en dekcellen, de mucoïde nevencellen, de praepylorische klieren en de klieren van Brunner zijn negatief, terwijl in de cardiaklieren slechts plaatselijk wat positieve korreltjes in het cytoplasma worden gevonden.

Het stroma van de mucosa is, vooral in de oppervlakkige lagen duidelijk positief. De mestcellen zijn in de paraffinecoupes niet duidelijk positief.

De astrablau kleuring toont een dergelijk beeld. In de cardiaklieren worden, naast negatieve klierbuizen, ook cellen gevonden, waarvan het cytoplasma zwak positief is, hetzij diffuus, hetzij in de vorm van granulae. Het epitheel van de uitvoergangen is wat sterker positief, vooral in de apicale delen van het cytoplasma. Het oppervlakte-epitheel is nergens duidelijk positief, plaatselijk kleurt het cytoplasma zeer vaag blauwgroen. De mucoïde nevencellen, hoofdcellen, dekcellen, praepylorische klieren en de klieren van Brunner zijn negatief. Het stroma van de mucosa is op vele plaatsen duidelijk positief. In de paraffinecoupes zijn de mestcellen niet duidelijk positief, wel echter in de vriescoupes.

Met de colloidaalzerkleuring wordt een deel van de cellen van de cardiaklieren positief gekleurd. Daarbij wordt herhaaldelijk gevonden, dat in een doorsnede van een klierbuis naast duidelijke positieve cellen ook cellen voorkomen, die slechts zwak positief of zelfs negatief zijn. Daarnaast worden ook buizen gevonden, waarvan de cellen een geheel negatief cytoplasma hebben. De positieve cellen lijken min of meer geconcentreerd in de nabijheid van de afvoergangen waarvan alle cellen apicaal in het cytoplasma een duidelijke positieve zone vertonen. Het oppervlakte-epitheel, de hoofdcellen en dekcellen zijn negatief. De mucoïde nevencellen zijn op vele plaatsen, vooral apicaal positief. De praepylorische klieren zijn vlekkelig en zwak positief, elders negatief, doch nergens uitgesproken positief.

In de klieren van Brunner worden naast elkaar cellen gevonden, waarvan het cytoplasma diffuus fijnkorrelig positief is en cellen met vrijwel negatief cytoplasma. De celgrenzen zijn op vele plaatsen duidelijk zichtbaar als een fijn geel lijntje. Plaatselijk is slechts het apicale deel van het cytoplasma positief en is de cel aan de apicale zijde begrensd door een duidelijke positieve lijn, die enigszins doet denken

aan de borstelzoom van het oppervlakte-epitheel van het duodenum. De klieren van Brunner zijn over het algemeen sterker positief dan de praepylorische klieren, terwijl de meer caudaal gelegen klieren van Brunner sterker positief zijn dan de meer oraal gelegen klieren. Tussen de oppervlakkig en de dieper gelegen klieren wordt geen duidelijk verschil gevonden. Het stroma van de mucosa van de maag is op vele plaatsen positief.

In de *tolidineblauw* kleuring wordt nergens in de normale maag of in de klieren van Brunner metachromasie gevonden.

Met *thionine* kleuren de hoofdcellen sterk blauw (niet metachromatisch!), terwijl de dekcellen geheel niet kleuren en als uitsparingen in de corpusklieren te zien zijn. Metachromasie wordt ook met deze kleuring niet gevonden.

In de *perioodzuur Schiff-astrablauw* kleuring, waarbij het P.A.S.-positieve materiaal rood en astrablauw-positieve materiaal blauwgroen kleurt, kleurt het cytoplasma van de cellen van de cardiaklieren diffuus rood met talrijke grotere en kleinere blauwe korreltjes. De dekcellen en hoofdcellen zijn negatief. De mucoïde nevencellen kleuren blauw en rood, overwegend rood echter. Het cytoplasma van het oppervlakte-epitheel is rood. Zowel de cellen van de praepylorische klieren als die van de klieren van Brunner kleuren afwisselend rood en blauw. Mengtinten worden hier vrijwel niet gevonden; het cytoplasma is of overheersend rood of overheersend blauw. Er lijkt hier meer astrablauw positief materiaal aanwezig te zijn dan in de gewone astrablauw-kleuring. Ter vergelijking werden daarom ook *astrablauw-perioodzuur Schiff* kleuringen gemaakt. Daarin lijkt het rood, het P.A.S. positieve element dus, te overheersen.

Astrablauwkleuring na perioodzuuroxidatie leverde hetzelfde beeld op als de gewone astrablauwkleuring, behalve dat het stroma geheel negatief was. De intensiteit van de kleur in de epitheelcellen was niet duidelijk veranderd. *Mucikarmijn* kleurt het cytoplasma van de cellen van de cardiaklieren plaatselijk, vooral in de nabijheid van de uitvoergangen positief. De hoofdcellen, dekcellen, mucoïde nevencellen, oppervlakte-epitheelcellen, praepylorische klieren, klieren van Brunner en het stroma van de mucosa zijn negatief.

Met *mucihæmateïne* positief kleurend materiaal werd in het normale maagslijmvlies en de klieren van Brunner niet gevonden. De bekercellen en de borstelzoom van het oppervlakte-epitheel van het duodenum waren echter wel positief.

In de *azankleuring* is het cytoplasma in de cardiaklieren bleekblauw, terwijl ongeveer halverwege tussen de kern en het lumen enkele rode korreltjes zichtbaar zijn. Het oppervlakte-epitheel is helderblauw, de mucoïde nevencellen kleuren lichtblauw. De hoofdcellen en dekcellen zijn negatief. De praepylorische klieren en de klieren van Brunner zijn lichtblauw. Het stroma van het maagslijmvlies is helder blauw.

Met de *aldehydfuchsi-nekleuring* worden de hoofdcellen zwak positief gekleurd, de elastische vezels en de muscularis mucosae duidelijk positief, terwijl alle andere epitheliale elementen in de maag en de klieren van Brunner negatief zijn.

AANHANGSEL II

Gedetailleerde beschrijving van de resultaten van het histochemisch onderzoek van 50 maagcarcinomen.

De onderzochte maagcarcinomen zijn in enkele groepen verdeeld op grond van hun differentiatiegraad:

Groep A: Overwegend goed gedifferentieerde adenocarcinomen (patient 1 t/m 18).

Groep B: deels goed gedifferentieerde, deels ongedifferentieerde adenocarcinomen (patient 19 t/m 32).

Groep C: Overwegend ongedifferentieerde carcinomen (patient 33 t/m 50).

Het materiaal bestaat uit maagresectiepreparaten en proefexcisies van maagcarcinomen of (soms) van de metastasen van maagcarcinomen.

Het materiaal werd aan het Pathologisch Laboratorium van de Rijksuniversiteit te Leiden ter onderzoek toegezonden door de afdeling Heelkunde (hoofd: Prof. Dr. M. Vink) van het Academisch Ziekenhuis te Leiden (patienten no's 1 t/m 6, 9 t/m 20, 22 t/m 26, 28 t/m 31, 33 t/m 36, 38, 39, 42 t/m 44, 46 t/m 49), Dr. H. Muller, chirurg, Diaconessenhuis te Leiden (patienten no's 8, 21, 25, 27, 32, 37, 40, 41, 50) en door G. J. Verdonk, patholoog-anatoom aan het Diaconessenhuis Bronovo (patient 45) en Rode Kruisziekenhuis (patient 7) te 's-Gravenhage.

Groep A: Overwegend goed gedifferentieerde adenocarcinomen.

Patient 1, een 76-jarige man leed vermoedelijk sinds zijn 48ste jaar aan anaemia perniciosa; deze werd met pernaemon behandeld. Na een collaps werd patient opgenomen met een hypochrome anaemie en melaena. De röntgenfoto van de maag toonde een beeld, dat verdacht was voor een poliepeuze tumor. Bij de operatie werden twee poliepen met een klein stukje omgevende maagwand verwijderd, een grotere ongeveer midden in de kleine curvatuur en een kleinere vlak boven de pylorus. 1½ Jaar na de operatie had patient geen klachten.

Pathologisch-anatomisch onderzoek (P.A. 4900/58):

Beide poliepen (resp. 3½ en 1 cm in grootste diameter) tonen het beeld van adenomateuze maagpoliepen. In de grootste poliep komen bovendien meer solide veldjes en nestjes voor en bestaat infiltratieve groei in het submukeuze bindweefsel en in de bloedvaten. Het tumorweefsel lijkt ruim verwijderd. De diagnose wordt gesteld op een poliepeus adenocarcinoom.

Enzymkleuringen (Alleen van de grootste poliep):

Alkalische fosfatase: alleen in het endotheel van de capillairen is enige activiteit aantoonbaar. De tumor is geheel negatief.

Zure fosfatase: de tumor is zwak positief. De minder gedifferentieerde delen lijken wat sterker positief. In het stroma worden verspreid vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen vrijwel overal een duidelijke smalle zoom van enzymactiviteit langs de apicale celrand. Ook de meer solide delen tonen een duidelijk activiteit in het cytoplasma van de cellen. Het endotheel van de bloedvaten is positief, het stroma is zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen tonen geen activiteit, het stroma is echter duidelijk positief. Het endotheel van de bloedvaten is eveneens positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): op enkele plaatsen wordt apicaal in de tumorcellen enzymactiviteit gevonden, overigens is het tumorweefsel negatief. Ook de solide en infiltrerende delen van de tumor zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): in de tumorcellen wordt plaatselijk een duidelijke activiteit gevonden, elders wordt geen activiteit gevonden. Soms is het ene deel van een buis positief en een ander deel negatief. De activiteit is meestal apicaal gelocaliseerd, soms echter is het hele cytoplasma positief.

Leucine aminopeptidase: de tumor is vrijwel overal negatief. Slechts in de solide en infiltrerende delen wordt een zwakke enzymactiviteit gevonden. Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: grote delen, o.a. de solide gebieden, van de tumor zijn negatief. Plaatselijk komen groepen buizen voor, waarvan de cellen langs de apicale rand een positieve zoom of een positieve apicale zone van het cytoplasma tonen.

Astrablauw: het grootste deel van de tumor is negatief. Plaatselijk komen buizen voor, waarvan de cellen een positieve apicale zoom vertonen. Elders wordt enig positief materiaal in het lumen van de buizen gevonden. Het beeld komt niet geheel overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: het grootste deel van de tumor is negatief. Op enkele plaatsen komen buizen voor, waarvan de apicale rand zwak positief kleurt. Soms kleurt ook het cytoplasma van een enkele cel in een buis positief. Er zijn hier meer positieve cellen dan in de astrablauwkleuring.

Patient 2, een 50-jarige man, had sinds 10 jaar voor zijn opname typische ulcusklachten, waarvoor 4 jaar voor opname een maagresectie volgens Billroth I werd verricht. Pathologisch-anatomisch onderzoek van het resectiepreparaat werd elders verricht, waarbij een ulcus pepticum werd gevonden. 1 jaar voor opname werd een achylia gastrica gevonden. Bij opname klaagde patient over retentiebraken en vermagering. Er werd nu wel vrij zuur gevonden (8/22). Röntgenologisch werd een volledige afsluiting gevonden. Bij laparotomie werd een grote tumor gevonden aan de grote curvatuur. Er werd een totale maagresectie verricht, waarbij tevens een stuk van het colon transversum, de staart van het pancreas en de milt werden verwijderd. Metastasen werden niet gevonden. 11 dagen na operatie overleed patient. Bij de obductie (S. 309/58) werd een insufficiënte operatienaad gevonden met een acute peritonitis. Metastasen werden nergens gevonden.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 5246/58) wordt een circulaire ulcererende tumor gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een goed gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn met uitgebreide slijmvorming. De resectieranden en de onderzochte lymfklieren bevatten geen tumorweefsel.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: In vele buizen wordt langs de apicale celrand een duidelijke activiteit gevonden. Deze positieve buizen zijn vaak groepsgewijs gerangschikt. Het stroma is negatief.

Zure fosfatase: het apicale deel van het cytoplasma van vele tumorcellen is tamelijk sterk positief. Op sommige plaatsen is de activiteit duidelijk gelocaliseerd in een smalle lijn langs de apicale celrand. In het stroma komen verspreid talrijke sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: in vele buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale zoom. Soms is slechts een deel van de cellen in een buis positief. Het beeld lijkt enigszins op dat van de alkalische fosfatasekleuring, doch is niet identiek. Het stroma is negatief.

Adenosinetrifosfatase: In vele buizen wordt een sterk positieve apicale zoom gevonden, andere buizen zijn negatief. Het stroma is negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief; meestal wordt de activiteit diffuus in het hele cytoplasma gevonden.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): in de meeste buizen wordt diffuus in het cytoplasma van de cellen een duidelijke activiteit gevonden, die enigszins wisselt in intensiteit. Het stroma is negatief.

Leucine aminopeptidase: vrijwel alle tumorcellen tonen een hoge activiteit langs de apicale celrand. Het stroma is negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de lumina van alle klierbuizen wordt sterk P.A.S.-positief materiaal gevonden. Vele tumorcellen tonen een P.A.S.-positieve apicale celrand.

Astrablaun en colloidaalijzer: tonen een overeenkomstig beeld.

Patient 3, een 58-jarige man, had sinds een half jaar voor de eerste opname last van retentiebraken. Bij laparotomie werd in het antrum van de maag een ulcererende tumor gevonden, waarvoor een subtotale maagresectie werd verricht. 1½ jaar later werd een ileocecale resectie verricht wegens een metastase in het mesocolon, die doorgroeid was tot in de voorste buikwand. Weer 9 maanden later werd patient opnieuw geopereerd; nu werd tumorweefsel gevonden in het mesenterium en nabij de rechter ureter; de buik werd daarop onverrichter zake gesloten. Patient overleed ½ jaar na de laatste operatie.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 1066/57) wordt in het praepylorische gebied een $2 \times 2\frac{1}{2}$ cm grote ulcererende tumor gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een goed gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn. De resectieranden zijn vrij van tumorweefsel. Langs de kleine curvatuur bevinden zich enkele lymfkliermetastasen. In het operatiepreparaat van de ileocecale resectie (P.A. 6058/58) wordt tussen het colon ascendens en een 12×5 cm groot stuk van de buikwand, dat mede verwijderd is, een 4×4 cm grote tumor gevonden, die zowel met de huid als met het colon vergroeid is. Bij microscopisch onderzoek blijkt ook dit een goed gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn, dat doorgroeid is tot in de muscularis van het colon.

Enzymkleuringen:

Deze konden alleen verricht worden van een stukje tumor uit het tweede resectiepreparaat (P.A. 6058/58).

Alkalische fosfatase: in vele buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Zure fosfatase: het cytoplasma van de tumorcellen is duidelijk positief. Het apicale deel is echter sterker positief dan de rest van het cytoplasma.

5-Nucleotidase: in enkele buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. De meeste cellen zijn echter negatief. Het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: het beeld komt overeen met dat van de 5-nucleotidase-kleuring. Het stroma is echter slechts zwak positief.

Niet-specifieke esterase: (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen in het cytoplasma diffuus een zwakke activiteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het cytoplasma van alle tumorcellen is diffuus duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Enkele cellen zijn zwak positief. Sterk positieve cellen worden nergens gevonden. Het stroma is negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de lumina van de meeste buizen wordt sterk P.A.S.-positief materiaal

gevonden. In vele buizen tonen de cellen een fraaie positieve apicale zoom.

Astrablau: toont een overeenkomstig beeld als de P.A.S. kleuring.

Patiënte 4, een 73-jarige vrouw, had sinds een half jaar klachten van retentie-braken. Bij laparotomie werd een kleine tumor in het praepylorische gebied gevonden, waarvoor een maagresectie volgens Billroth II werd verricht. Tevens werd een galblaas met stenen verwijderd. Metastasen werden niet gevonden. 10 maanden na de operatie maakte patiënte het uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 1048/59) wordt in het praepylorische gebied een circulaire 3 cm brede ulcererende tumor gevonden, die bij microscopisch onderzoek een goed gedifferentieerd adenocarcinoom blijkt te zijn. De tumor is doorgroeit tot in de serosa. Er zijn enkele lymfkliermetastasen aan het preparaat aanwezig. Het maagslijmvlies toont overigens een atrofische gastritis met intestinale en pseudopylorische metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Slechts enkele cellen tonen een duidelijke activiteit.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn duidelijk, vaak zelfs sterk positief. De activiteit is vaak voornamelijk in het apicale deel van de cel gelocaliseerd. De inhoud van de buisjes is merendeels sterk positief.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen merendeels een duidelijk positieve apicale zoom; sommige cellen zijn zwak positief of zelfs vrijwel negatief.

Adenosinetrifosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Op een enkele plaats worden buizen gevonden, waarvan de cellen een duidelijk positieve celrand tonen.

Niet-specifieke esterase: (α -naphthylacetaatmethode) alle cellen tonen een zwakke enzymactiviteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): alle tumorcellen zijn positief, de meeste zwak positief, sommige cellen echter tamelijk sterk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste cellen zijn geheel negatief. Slechts op een enkele plaats wordt een zwakke activiteit in de tumorcellen gevonden.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de inhoud van vele buizen is duidelijk P.A.S.-positief. Plaatselijk komen cellen voor, waarvan de apicale celrand P.A.S.-positief is. Overigens zijn de tumorcellen negatief.

Astrablau: toont een overeenkomstig beeld als de P.A.S. kleuring.

Colloidaalijzer: toont eveneens een dergelijk beeld, doch hier wordt een positieve apicale rand in meer buisjes gevonden dan met de P.A.S. kleuring.

Patiënt 5, een 65-jarige man, had sinds enkele maanden last van stagnatie van vast voedsel. Zowel röntgenologisch als gastroscopisch was het beeld niet typisch voor een tumor. Bij operatie werd echter in het cardiagebied een 3 cm grote tumor gevonden. Het distale deel van de slokdarm en het proximale deel van de maag werden geresceerd. Metastasen werden niet gezien. Patiënt overleed 10 maanden na de operatie.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het resectiepreparaat (P.A. 1996/59) wordt vlak onder de slijmvliesgrens slokdarm-maag een vrijwel circulaire 3 cm brede vaste grijswitte tumor gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een goed gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn, dat doorgroeit tot in de serosa. In de oppervlakkige lagen toont de tumor een wat papillaire bouw. Langs de kleine curvatuur bevinden zich enkele lymfkliermetastasen. Het maagslijmvlies toont overigens een normaal beeld.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Slechts op enkele plaatsen worden buisjes gevonden, waarvan de cellen een duidelijke activiteit vertonen langs de apicale celrand. In de periferie van de tumor bestaat rondom de buisjes een duidelijke proliferatie van fibroblasten, die een hoge activiteit tonen.

Zure fosfatase: alle cellen tonen diffuus in het cytoplasma een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: in vrijwel alle buisjes tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Adenosinetrifosfatase: de meeste cellen zijn negatief. Op enkele plaatsen tonen de cellen een zwakke activiteit langs de apicale celrand.

Niet-specifieke esterase: (α -naphthylacetaatmethode): vrijwel alle buisjes zijn negatief. Slechts op een enkele plaats wordt zwakke activiteit gevonden.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de meeste cellen tonen een zwakke activiteit.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste buizen zijn negatief. Op enkele plaatsen is de apicale rand van het cytoplasma positief. Plaatselijk wordt sterk P.A.S.-positief materiaal in het stroma gevonden. De inhoud van de meeste buizen is duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt geheel overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: toont eveneens een overeenkomstig beeld, echter minder fraai.

Patient 6, een 70-jarige man, werd opgenomen wegens een pylorusstenose. Bij laparotomie werd een tumor gevonden in het praepylorische gebied met lymfkliermetastasen langs de grote curvatuur. Verder werden geen metastasen gevonden. Er werd een maagresectie verricht. Patient kreeg tevens mitoxine intraperitoneaal en intraveneus. Patient maakte het 9 maanden na de operatie redelijk goed.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 2696/59) wordt vlak boven de pylorus een vrijwel circulaire 2 cm brede ulcererende tumor gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een redelijk gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn. In een der lymfklieren wordt een soortgelijk tumorweefsel gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in de meeste buisjes wordt een duidelijke activiteit langs de apicale celrand gevonden. Soms is ook het apicale deel van het cytoplasma positief. Sommige groepen buisjes vertonen geen activiteit. Het in het lumen van de buisjes aanwezige materiaal kleurt sterk positief.

Zure fosfatase: de tumorcellen hebben een zwak positief cytoplasma. Vaak is de activiteit in de basale delen van het cytoplasma wat sterker. Het stroma is positief; verspreid komen hierin talrijke cellen voor, die een zeer hoge activiteit vertonen. Het in het lumen van de buisjes aanwezige materiaal kleurt zeer sterk positief.

5-Nucleotidase: de meeste cellen tonen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. Het beeld komt overeen met dat van de alkalische fosfatasekleuring.

Adenosinetrifosfatase: vrijwel alle tumorcellen zijn negatief. Slechts op een enkele plaats wordt in de apicale celrand enige activiteit gevonden.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen hebben een diffuus positief cytoplasma. Meestal is de activiteit slechts zwak, plaatselijk echter wat sterker.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de meeste cellen tonen slechts een zeer zwakke activiteit, plaatselijk is de activiteit zwak tot matig sterk. De activiteit wordt diffuus in het cytoplasma gevonden.

Leucine aminopeptidase: de meeste buizen zijn negatief. Plaatselijk, vooral in de lymfkliermetastase, wordt een duidelijke activiteit gevonden.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen zijn negatief. Op enkele plaatsen kleurt de apicale celrand positief. In de lumina van de buizen wordt veel P.A.S.-positief materiaal gevonden.

Astrablau: de tumorcellen zijn overal negatief. Een duidelijk positieve apicale celrand wordt nergens gevonden. Het materiaal in de lumina van de buizen is merendeels slechts zwak positief.

Colloidaal ijzer: hiermee wordt een overeenkomstig beeld verkregen als met de astrablaukleuring.

Patient 7, een 62-jarige man, had reeds sinds maanden maagklachten, waarvoor hij, zonder succes, reeds een ulcuskuur had ondergaan. Bovendien werd bij patient een anaemie gevonden en een vast supraclaviculair lymfoom, dat geexideerd werd. In het skelet en in de longen werden röntgenologisch beelden gezien, die zeer verdacht waren voor tumormetastasen.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het excisiepreparaat van de lymfklier (P.A. 3261/59) wordt een metastase van een redelijk gedifferentieerd adenocarcinoom gevonden. Hoewel het dus niet zeker is, dat het hier een primair maagcarcinoom betreft, lijkt dit toch wel alleszins waarschijnlijk.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: het merendeel van de tumorcellen is negatief. Op enkele plaatsen tonen de cellen een positieve apicale zoom. In het stroma vlak om de tumor heen worden vrij veel sterk positieve fibroblasten gevonden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak tot matig positief. Vaak is de enzymactiviteit in de basale delen van het cytoplasma het sterkst. Op enkele plaatsen wordt de activiteit gevonden in een smalle apicale rand.

5-Nucleotidase: in de meeste buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. De rest van het cytoplasma is overal negatief. Het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: het beeld komt vrijwel overeen met dat van de 5-nucleotidasekleuring. Het stroma is echter slechts zwak positief. Het in de lumina aanwezige materiaal kleurt vaak duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen diffuus in het cytoplasma een matige tot sterke activiteit.

Niet-specifieke esterase: (broomindoxylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen een zwakke tot matige activiteit diffuus in het cytoplasma.

Leucine aminopeptidase: het merendeel van de cellen is negatief. Plaatselijk komen echter enkele cellen voor, waarvan het cytoplasma een duidelijke activiteit vertoont.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen: niet onderzocht.

Patient 8, een 63-jarige man was sinds een half jaar voor opname sterk vermaagd en toonde een duidelijke weerzin in vlees. Bij operatie werd een grote in het lumen uitpuilende tumor gevonden in het praepylorische gebied, waarvoor een totale maagresectie werd verricht met oesofagoduodenostomie. Ruim 1½ jaar na de operatie maakt patient het uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 4192/59) wordt in de kleine curvatuur een

14 × 11 × 4 cm grote papillomateuze tumor gevonden, die van vlak boven de pylorus tot 3 cm onder het orale sneevlak reikt. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een papillair gebouwd adenocarcinoom te zijn, dat tot in het weefsel van de kleine curvatuur is doorgesloegen. De lymfklieren en de resectieranden bevatten geen tumorweefsel. Het maagslijmvlies toont verder een duidelijke chronische gastritis met eilandjes intestinale metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in de meeste tumorcellen wordt langs de apicale celrand een hoge enzymactiviteit gevonden, in de overige cellen is deze activiteit slechts zwak.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief. Vaak is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma veel sterker.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen een matig sterke activiteit. Ook hier is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma vaak duidelijk sterker dan in de rest van het cytoplasma.

Adenosinetrifosfatase: de meeste tumorcellen tonen geen activiteit. Sommige cellen tonen diffuus in het cytoplasma een zwakke activiteit. Het stroma is zwak positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit, diffuus in het cytoplasma.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen slechts een zwakke activiteit.

Leucine aminopeptidase: nergens wordt in de tumorcellen enige activiteit gevonden.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: vrijwel alle tumorcellen zijn negatief. In de lumina wordt veel P.A.S.-positief materiaal gevonden.

Astrablau: de tumorcellen zijn negatief. Plaatselijk wordt in de lumina enig positief kleurend materiaal gevonden.

Colloidaal ijzer: het beeld komt vrijwel overeen met dat van de astrablaukleuring.

Patiënte 9, een 86-jarige vrouw braakte sinds zes weken voor haar opname. Bij onderzoek werd een maagretentie gevonden. Bij laparotomie bleek er een stracterende tumor in het antrum te bestaan, waarvoor een subtotale maagresectie werd verricht. Postoperatief ging de toestand snel achteruit. Patiënte overleed nog dezelfde dag. Obductie kon niet worden verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 4448/59) wordt in de kleine curvatuur met de onderrand 2 cm boven de pylorus een 6 × 7 cm grote ulcererende tumor gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een redelijk gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn. Langs de kleine curvatuur worden enkele lymfkliermetastasen gevonden.

De tumor groeit in de subserieuze lymfspleten door tot in het distale resectievlak.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. In enkele buisjes tonen de cellen een positieve apicale zoom.

Zure fosfatase: de tumorcellen hebben een zwak positief cytoplasma. Soms is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma duidelijk sterker. In het stroma worden verspreid vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: het beeld komt geheel overeen met dat van de alkalische fosfatasekleuring.

Adenosinetrifosfatase: vele tumorcellen tonen in het cytoplasma slechts een zeer zwakke activiteit. Plaatselijk komen enkele buisjes voor, waarvan de cellen een duidelijke activiteit tonen in de apicale celrand.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen tonen diffuus in het cytoplasma een matige tot sterke activiteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen en het stroma zijn negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen tonen een positief cytoplasma, in de solide velden meer diffuus, in de buizen vaak langs de apicale celrand.

Astrablau: het cytoplasma van de meeste tumorcellen is negatief. In de lumina van de buizen bevindt zich zwak positief materiaal.

Colloidaal ijzer: slechts in een deel der tumorcellen wordt positief kleurend materiaal in het cytoplasma gevonden, in de buizen vaak langs de apicale celrand.

Patiënte 10, is een 66-jarige vrouw, die sinds enkele maanden klaagde over moeheid en vermagering. Zij was reeds bekend als galsteenlijdstster. Op de röntgenfoto werd een grote maagtumor in het angulusgebied gezien. Er werd een maagresectie en tevens een cholecystectomie verricht. Langs de kleine curvatuur werden lymfkliermetastasen gevonden. Patiënte maakte het 7 maanden na de operatie uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 6560/59) wordt in de voorwand in het antrumgebied een ulcererende tumor gevonden, met een doorsnede van 6 cm en opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek, blijkt dit een plaatselijk wat papillair gebouwd adenocarcinoom te zijn dat door alle wandlagen is heengegroeid. Het stroma van de tumor bevat veel ontstekingsinfiltraat.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in vrijwel alle buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit in de apicale celrand. Overigens is het cytoplasma negatief. In het stroma worden vele sterk positieve fibroblasten gevonden.

Zure fosfatase: alle tumorcellen tonen een sterke activiteit in het apicale deel van het cytoplasma, terwijl de rest van het cytoplasma slechts zwak positief is. In het stroma worden verspreid vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: alle cellen tonen een hoge activiteit in de apicale celrand (fig. 26). De rest van het cytoplasma is slechts op een enkele plaats zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: in de meeste buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand. Overigens is het cytoplasma slechts op een enkele plaats zeer zwak positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief. Het apicale deel van het cytoplasma is nergens duidelijk sterker positief dan de rest van het cytoplasma. De activiteit in de tumorcellen is duidelijk hoger dan in het normale oppervlakte-epitheel van de maag, doch lager dan in de intestinale metaplasie.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn negatief. In enkele buizen tonen de cellen een zwak positieve apicale celrand.

Barnsteenzuurdehydrogenase: alle tumorcellen tonen, vrij gelijkmatig, een zwakke activiteit.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen hebben een matig sterk positief cytoplasma.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen in het cytoplasma een zwakke tot matig sterke activiteit.

Isocitroenzuurdehydrogenase: het cytoplasma van de tumorcellen is matig sterk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: in het cytoplasma van alle tumorcellen wordt een zwakke tot matig sterke activiteit gevonden.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: In vele buizen is het apicale deel van de cel duidelijk positief, in andere cellen worden duidelijk positieve bollen gevonden. Het slijm in de lumina is duidelijk positief.

Astrablau: Het beeld komt geheel overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: idem.

Patient 11 is een 65-jarige man, die sinds enkele weken klaagde over pijn in de maagstreek. Bij röntgenologisch en gastroscopisch onderzoek werd een grote tumor in het cardiagebied vastgesteld. Er werd een totale maagresectie verricht met interpositie van een jejunumlis tussen de oesofagus. Tevens werd splenectomie verricht en een partiële resectie van de linker leverkwab. 10 Dagen na de operatie was relaparotomie nodig wegens ileus en werden enkele strengen doorgeknipt. Overigens was het postoperatieve beloop ongestoord. 4 Maanden na de operatie maakte de patient het goed.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In de kleine curvatuur van het maagresectiepreparaat (P.A. 459/60) bevindt zich een ulcererende tumor, die maximaal 8 cm groot is en tot 2 cm onder de oesofaguslijmvlies reikt.

De tumor is door alle wandlagen heengegroeid.

Er wordt aan het preparaat slechts een enkele lymfkliermetastase gevonden. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een adenocarcinoom te zijn, dat slechts op enkele plaatsen in meer solide strengen groeit. Wel komt op vele plaatsen necrose en ontstekingsinfiltraat voor.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief. In het stroma komen vele sterk positieve fibroblasten voor.

Zure fosfatase: het cytoplasma van de cellen is zwak positief; het apicale deel is echter duidelijk sterker dan de rest van het cytoplasma.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit in de apicale celrand. De rest van het cytoplasma is soms zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: slechts in enkele buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): het cytoplasma van de tumorcellen is wisselend, doch merendeels sterk positief. De activiteit wordt diffuus in het cytoplasma gevonden.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het cytoplasma van de tumorcellen is diffuus zwak tot matig sterk positief.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen en het stroma zijn overal negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit diffuus in het cytoplasma.

Melkzuurdehydrogenase: het cytoplasma van de tumorcellen is diffuus duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit in het cytoplasma.

Isocitroenzuurdehydrogenase: het cytoplasma van de tumorcellen is slechts zeer zwak positief, op vele plaatsen vrijwel negatief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: het cytoplasma van de tumorcellen is zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in een deel van de buizen tonen de cellen een duidelijke positieve apicale celrand. Andere cellen bevatten positieve bollen in het cytoplasma.

Astrablau: slechts in enkele tumorcellen wordt een zwak positieve apicale celrand of een positieve bol in het cytoplasma gevonden.

Colloidaalijzer: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Patient 12 is een 67-jarige man, die sinds enkele maanden klaagde over braken, anorexie en vermagering. Bij onderzoek werd een histaminerefractaire achylie gevonden zonder anaemie. Het röntgenologisch onderzoek van de maag leverde een beeld op, dat verdacht was voor een maligne proces in het cardiagebied. Er werd een resectie van het cardiagebied verricht. Het postoperatief beloop was ongestoord. Enkele maanden later bleek er een stenose te bestaan, waarvoor een totale maag-resectie werd verricht met interpositie van een dunne darmlis.

In dit resectiepreparaat (P.A. 3254/60) werd geen tumorweefsel gevonden.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het eerste resectiepreparaat (P.A. 1317/60) bevindt zich een $6\frac{1}{2} \times 8$ cm grote tumor, die deels bloemkoolachtig, van aspect was, deels ulcererend. De tumor reikt tot enkele centimeters van de slijmvliesgrens maag-slokdarm en tot 1 cm van het distale resectievlak. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een goed gedifferentieerd papillair adenocarcinoom te zijn met plaatselijk ontsteking en necrose. Aan het preparaat is een enkele lymfkliermetastase aanwezig. Het maagslijmvlies toont overigens het beeld van een chronische gastritis met metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: een deel van de tumorcellen is negatief, een ander deel toont duidelijke activiteit langs de apicale celrand. Het stroma toont eveneens duidelijke activiteit.

Zure fosfatase: alle tumorcellen tonen een zwakke activiteit. In het stroma worden verspreid vele cellen gevonden met een zeer hoge enzymactiviteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen langs de apicale celrand een hoge activiteit, elders in het cytoplasma slechts een zwakke activiteit.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit, die in het apicale deel van het cytoplasma echter duidelijk sterker is dan elders in het cytoplasma. Het stroma toont een duidelijke activiteit.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief. In het stroma komen verspreid vele cellen voor met een hoge activiteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn overal vrijwel negatief; de verspreid in het stroma voorkomende cellen vertonen slechts een matige activiteit.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn overal negatief. Het stroma toont plaatselijk enige activiteit.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen slechts een zwakke activiteit.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn overal duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de cellen tonen slechts een zwakke enzymactiviteit.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de cellen tonen vrijwel overal een duidelijke enzymactiviteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de cellen zijn alle matig sterk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: Slechts op enkele plaatsen is positief materiaal in het cytoplasma van de tumorcellen aanwezig. In de lumina wordt op vele plaatsen zwak positief materiaal gevonden.

Astrablau: de tumorcellen zijn overal negatief. In de lumina wordt plaatselijk sterk positief materiaal gevonden.

Colloidaalijzer: de tumorcellen zijn slechts op een enkele plaats positief, soms in de vorm van een smalle lijn langs de apicale celrand. De inhoud van de lumina is plaatselijk positief.

Patiënte 13 is een 67-jarige vrouw, die sinds 4 maanden voor operatie klaagde over misselijkheid en braken. Röntgenologisch werd een stenoserende tumor in het praepylorische gebied aangetoond. Bij operatie bleek de tumor doorgegroeid te zijn in het ligamentum hepato-duodenale; bovendien werden talrijke lymfkliermetastasen gevonden.

Ascites of levermetastasen werden echter niet aangetroffen. Van een resectie werd afgezien en er werd een gastrojejunostomie aangelegd.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van een verwijderde lymfklier (P.A. 3031/60) levert het beeld op van een metastase van een papillair gebouwd adenocarcinoom.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief, het stroma is op vele plaatsen positief.

Zure fosfatase: de tumorcellen hebben een zwak positief cytoplasma, plaatselijk is de activiteit langs de apicale celrand hoger. In het stroma komen vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief. Het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen tonen plaatselijk een zwak positief apicale celrand, overigens zijn de tumorcellen negatief. Het stroma is positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn positief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn negatief, evenals het stroma.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de meeste tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen in het stroma zijn positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in het cytoplasma van vele cellen worden positieve bolletjes gevonden. In vele buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand. Het slijm in de lumina is sterk positief.

Astrablau: de tumorcellen zijn overal negatief, ook langs de apicale celranden. Het slijm in de lumina is slechts plaatselijk positief.

Colloidaalijzer: slechts in enkele tumorcellen worden positieve bolletjes gevonden, terwijl slechts plaatselijk in de buizen de apicale celranden positief zijn. Het slijm in de lumina is zwak positief.

Patiënt 14 is een 55-jarige man, die sinds enkele maanden voor opname klaagde over moeheid. Er werd een hyprochrome anaemie vastgesteld. Bij röntgenologisch onderzoek werd een stricturerende tumor in het gebied van de maagfundus gevonden. Bij laparotomie werd in de achterwand van de maag een grote tumor gevoeld, waarvoor een subtotale maagresectie werd verricht met miltextirpatie en resectie van het omentum. Postoperatief ontwikkelde zich een klein subfrenisch abces. Met een subfebriële temperatuur werd patiënt tenslotte ontslagen.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 3739/60): in de achterwand bevindt zich een 7 cm grote, uitpuilende en ulcererende tumor, die tot 2½ cm van het orale resectievlak reikt. Bij microscopisch onderzoek blijkt het

een goed gedifferentieerd adenocarcinoom (fig. 30) te zijn. Er worden geen lymfkliermetastasen aangetoond.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumor is vrijwel overal negatief. Slechts enkele buisjes tonen positieve apicale celranden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn merendeels zwak positief, plaatselijk is de activiteit in het apicale deel van de cel duidelijk hoger.

5-Nucleotidase: in vele buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand. Overigens zijn de tumorcellen negatief.

Adenosinetrifosfatase: in vele buizen tonen de cellen een zeer hoge activiteit langs de apicale celrand. De rest van het cytoplasma is negatief.

Niet specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de meeste tumorcellen zijn negatief, plaatselijk tonen de tumorcellen een zwakke tot zeer zwakke activiteit.

Leucine aminopeptidase: in vele buizen tonen de cellen een zeer hoge activiteit langs de apicale celrand. Vaak komen positieve en negatieve cellen naast elkaar in dezelfde buizen voor (fig. 32).

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn wisselend, merendeels matig sterk positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen en het stroma zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief, het stroma is zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn wisselend, merendeels matig sterk positief. Het stroma is zwak positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste cellen tonen een duidelijk positieve apicale celrand. Plaatselijk komen tumorcellen voor met een sterk positieve bol in het cytoplasma. Het slijm in de lumina is duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring (fig. 31).

Colloidaalijzer: idem.

Patient 15 is een 69-jarige man, die sinds 10 jaar voor opname maagklachten had. Het laatste jaar was de eetlust vermindert; bovendien was patient sterk vermagerd. Bij operatie elders werd een cardiatumor gevonden; voor een resectie werd patient naar het Academisch Ziekenhuis te Leiden verwezen. Hier werd bij operatie een grote cardiatumor gevonden, waarvoor een resectie van het cardiale deel van de maag met miltextirpatie en partiele pancreasresectie werd verricht. Postoperatief toonde patient recidiverende temperatuursverhogingen, terwijl de algemene toestand verslechterde. Patient overleed 1 maand na de operatie. Bij de obductie (S. 286/60) werden tumormetastasen in de lever gevonden. Er bestond een intrathoracale naadlekkage met purulente pleuritis aan de linkerzijde.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4270/60): in de kleine curvatuur bevindt zich, ongeveer $2\frac{1}{2}$ cm van het orale resectievlak, een maximaal 6 cm grote ulcererende tumor met opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een adenocarcinoom te zijn, dat in grote velden tot diep in de muscularis doordringt. In enkele, dicht bij de tumor gelegen, lymfklieren wordt soortgelijk tumorweefsel gevonden, eveneens in biopsiemateriaal uit de lever.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: plaatselijk komen buizen voor, waarvan de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celranden vertonen. Overigens zijn de tumorcellen negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief. Het stroma bevat vele sterk positieve cellen.

5-Nucleotidase: de meeste tumorcellen tonen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. De rest van het cytoplasma is merendeels zwak positief.

Adenosintrifosfatase: in een deel van de buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand, overigens zijn de tumorcellen negatief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Leucine aminopeptidase: op talrijke plaatsen tonen de cellen in de buizen een duidelijke activiteit langs de apicale celranden. Soms betreft dit slechts kleine groepjes cellen, soms hele buizen.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen vertonen een duidelijke activiteit.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen vertonen een duidelijke activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: plaatselijk vertonen de tumorcellen een duidelijk positieve apicale celrand. De rest van het cytoplasma is negatief. Het slijm in de lumina is duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: in de meeste buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand.

Patiënte 16 is een 74-jarige vrouw, die 2 jaar geleden een ablatie van een mamma had ondergaan wegens een mammacarcinoom met lymfkliermetastasen. Thans klaagde patiënte sinds enkele maanden over pijn in de bovenbuik en in de rug, slechte eetlust, misselijkheid, moeheid en vermagering. Rechts naast de navel was een tumor palpabel. Er bestond een achloorhydrie, die reflectair was tegen histamine. Bij röntgenologisch onderzoek werd een grote tumor gezien in de kleine curvatuur. Bij laparotomie bleek de tumor doorgroeid te zijn in de naburige organen. Er werden vele metastasen gezien, waarvan er een uit het omentum majus voor onderzoek verwijderd werd. Van verder operatief ingrijpen werd afgezien. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van de verwijderde metastase (P.A. 5143/60): de lymfklier is vrijwel geheel verwoest door een metastase van een goed gedifferentieerd adenocarcinoom.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in vele buizen tonen de cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. Op enkele plaatsen is ook de rest van het cytoplasma positief.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit, die soms langs de apicale celrand duidelijk hoger is. In het stroma komen vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: vrijwel alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand, terwijl vaak ook de rest van het cytoplasma positief is.

Adenosintrifosfatase: vrijwel alle tumorcellen tonen een duidelijk positieve apicale celrand. De rest van het cytoplasma is meestal negatief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn wisselend, merendeels zwak positief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen tonen een zeer hoge activiteit langs de apicale celrand, terwijl in vele cellen ook de rest van het cytoplasma een duidelijke activiteit vertoont.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.
Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de tumorcellen tonen een duidelijk positieve apicale celrand, terwijl soms de rest van het cytoplasma duidelijk positief is.

Astrablauw: de tumorcellen tonen een duidelijk positieve apicale celrand.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablauwkleuring.

Patient 17 is een 51-jarige man, die sinds een half jaar krampen had in de bovenbuik en sterk vermagerd was. Bij een proeflaparotomie elders werd een tumor in het cardiagebied gevonden. Voor een eventuele resectie werd patient naar het Academisch Ziekenhuis te Leiden overgeplaatst. Hier werd bij de operatie bovendien nog een tumor in het colon transversum gevonden. Er werd een maagresectie verricht met een exstirpatie van het colon transversum. Het postoperatieve beloop was ongecompliceerd.

Pathologisch anatomisch onderzoek van het operatiepreparaat (P.A. 5290/60): in de kleine curvatuur van de maag bevindt zich een 6 cm grote ulcererende tumor met opgeworpen randen; de tumor is doorgesloei in het omgevende vetweefsel. Nabij het duodenum bevindt zich in de maag bovendien een 2 cm grote poliep. In het colon wordt een 4 cm grote ulcererende tumor gevonden met opgeworpen randen.

Bij microscopisch onderzoek blijkt de maagtumor een plaatselijk papillair groeiend adenocarcinoom te zijn, dat in het omgevende vetweefsel in kleine strenggetjes door-groeit. De poliep toont wel een duidelijke atypie, doch infiltratieve groei wordt hier niet gevonden. De tumor in het colon is eveneens een wat papillair gebouwd adenocarcinoom, dat van het colonslijmvlies lijkt uit te gaan. Lymfkliermetastasen worden nergens gevonden. Er wordt geconcludeerd tot een dubbel carcinoom van maag en colon.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: zowel de cellen van het maagcarcinoom als die van de poliep zijn negatief.

Zure fosfatase: de carcinoomcellen zijn zwak positief, het stroma bevat vele positieve cellen. Het epitheel van de poliep is eveneens zwak positief vooral in het apicale deel van de cel.

5-Nucleotidase: een deel van de carcinoomcellen toont een zwak positieve apicale celrand. De overige carcinoomcellen zijn negatief, terwijl het stroma duidelijk positief is. De epitheelcellen van de poliep zijn overal negatief.

Adenosinetrifosfatase: de carcinoomcellen tonen plaatselijk een duidelijke activiteit langs de apicale celrand, overigens zijn de carcinoomcellen negatief. Het stroma is positief. Het epitheel van de poliep is negatief, terwijl hier het stroma zwak positief is.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de carcinoomcellen zijn wisselend, merendeels zwak positief. Het epitheel van de poliep is wisselend doch merendeels duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: de carcinoomcellen zijn negatief, het stroma is plaatselijk sterk positief. In de poliep komen talrijke buizen voor, die een duidelijke activiteit langs de apicale celrand vertonen.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de carcinoomcellen zijn zwak positief, de epitheelcellen van de poliep zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: zowel de carcinoomcellen als de epitheelcellen van de poliep zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de carcinoomcellen zijn zwak positief, de epitheelcellen van de poliep zijn duidelijk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de carcinoomcellen zijn zeer sterk positief, terwijl de epitheelcellen van de poliep slechts matig sterk positief zijn.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: zowel de carcinoomcellen als de epitheelcellen van de poliep zijn duidelijk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste carcinoomcellen zijn negatief, slechts in enkele buizen worden positieve apicale celranden gevonden. De epitheelcellen van de poliep zijn deels negatief, deels is het apicale deel van de cellen duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: vele buizen in het carcinoom tonen een positieve apicale celrand. De epitheelcellen van de poliep zijn deels negatief, deels is het apicale deel van de cel positief, deels bestaat er een duidelijke positieve apicale celrand.

Het coloncarcinoom toont een duidelijk afwijkend enzympatroon; ook de localisatie in de cel is soms verschillend. Het duidelijkste verschil ten opzichte van het maagcarcinoom toont isocitroenzuurdehydrogenase, terwijl ook zure fosfatase, 5-nucleotidase, niet-specifieke esterase, barnsteenzuurdehydrogenase en glucose 6-fosfaatdehydrogenase verschillen vertonen. De slijmkleuringen tonen geen opvallende verschillen.

Patient 18, een 58-jarige man had sinds enkele maanden pijn achter het borstbeen met loze braakneigingen. Tevens was hij sterk vermagerd. Het röntgenologisch beeld was sterk verdacht voor een maligne tumor laag in de slokdarm of hoog in de maag. Bij operatie bleek zich inderdaad in dit gebied een tumor te bevinden. Het orale deel van de maag en het distale deel van de slokdarm werden gereserveerd. Metastasen werden niet gezien.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het operatiepreparaat (P.A. 5554/60): juist ter plaatse van de slijmvliesgrens slokdarm-maag bevindt zich een 4 cm grote ulcererende tumor met opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een wat papillair gebouwd adenocarcinoom te zijn, dat tot diep in het vetweefsel langs de kleine curvatuur is doorgegroeid. Er worden geen lymfkliermetastasen aangetoond.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn sterk tot zeer sterk positief, soms alleen langs de apicale celrand, meestal echter diffuus in het hele cytoplasma.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn duidelijk positief zonder voorkeur voor een apicale localisatie. Plaatselijk worden vele sterk positieve cellen in het stroma gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn sterk tot zeer sterk positief, deels langs de apicale celrand, deels diffuus in het cytoplasma. Het stroma is duidelijk positief.

Adenosinetrifosfatase: het beeld komt overeen met dat van de 5-nucleotidase-kleuring.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn deels positief, deels negatief.

Leucine aminopeptidase: de beoordeling wordt bemoeilijkt doordat een groot deel van de coupes door onbekende oorzaak van de glaasjes is afgespoeld. De meeste resterende tumorcellen zijn negatief, enkele cellen zijn zwak positief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn wisselend, zwak tot matig sterk positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: een deel van de tumorcellen heeft een duidelijke positieve apicale celrand,

elders worden positieve bolletjes in het cytoplasma gevonden. Het slijm in de lumina is duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S.-kleuring, bovendien is het stroma sterk positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring.

Groep B: Deels goed gedifferentieerde, deels ongedifferentieerde adenocarcinomen

Patient 19, een 69-jarige vrouw heeft sinds een half jaar last van retentiebraken. Bij operatie wordt een papillaire tumor gevonden in het cardiagebied, waarvoor een subtotale maagresectie wordt verricht. Enkele weken later ontstaan weer passagestoornissen in de maag. Bij heroperatie, 5 weken na de eerste ingreep, wordt een poliep verwijderd met de restmaag. Tevens wordt een pyloroplastiek verricht. Na de operatie volgt een periode met darmparalyse, later ook beenvenethrombose en terminaal sepsis. Patiente overlijdt twee weken na de relaparotomie.

Bij de obductie (S. 448/58) wordt een stafylococcensepsis gevonden, een etterige peritonitis en metastatische abscessen in het hart en de nieren.

In de anastomose wordt een recent ulcus pepticum gevonden. Tumorweefsel wordt nergens aangetroffen.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 6463/58) wordt een papillomateuze tumor gevonden met een grootste diameter van 6 cm. De tumor is doorgroeit tot in het vetweefsel van de kleine curvatuur. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een papillair gebouwd adenocarcinoom te zijn, dat in de diepte in kleine buisjes en solide strengetjes groeit. Op vele plaatsen wordt leucocytaire infiltraat gevonden met enkele kleine necrosehaardjes.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: enkele veldjes tumorweefsel zijn zwak positief. Er is geen duidelijk apicale localisatie. Overigens is de tumor negatief.

Zure fosfatase: het tumorweefsel is zeer zwak positief. In het stroma worden zeer veel, sterk positieve cellen gevonden (macrofagen).

5-Nucleotidase: de tumor is negatief. Het stroma is vrijwel overal duidelijk positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumor is negatief. Ook hier is het stroma duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase: (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen een zwakke activiteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): vrijwel alle tumorcellen tonen een sterke enzymactiviteit, diffuus in het cytoplasma.

Leucine aminopeptidase: het tumorweefsel is deels negatief, deels duidelijk positief. In het algemeen zijn de solide velden negatief, terwijl de kleine strengetjes positief zijn. Enkele klierbuizen tonen enzymactiviteit in een smalle lijn langs de apicale rand van de cellen.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de solide nestjes komen talrijke cellen voor, die een P.A.S.-positief cytoplasma hebben. In vele lumina van klierbuizen wordt P.A.S.-positief materiaal gevonden. Slechts op een enkele plaats wordt in de buizen een smalle positieve zoom apicaal in de cellen gevonden.

Astrablau: deze kleuring toont een overeenkomstig beeld als de P.A.S.-kleuring.

De later verwijderde poliep (P.A. 7337/58) vertoont een adenomateuze bouw, waarbij nauwe en wijde klierbuizen elkaar afwisselen. Sommige buizen zijn cysteus verwijd. Het klierbuisepitheel is merendeels hoogcilindrisch met basaal gelegen kernen en donker eosinofiel, apicaal scherp begrensd cytoplasma. Bovendien

worden enkele buizen gevonden waarin zich bekerzellen bevinden. Deze cellen doen het meest denken aan dunne darmepitheel. Daarnaast wordt ook epitheel gevonden, dat doet denken aan oppervlakte-epitheel van de maag. In de diepere delen van de poliep komen klierbuisjes voor met cellen met helder cytoplasma, die een sterke gelijkenis vertonen met praepylorische klieren. Er bestaat slechts een geringe polymorfie en atypie. Er is geen infiltratieve groei aantoonbaar. De diagnose wordt gesteld op een adenomateuze poliep.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: een smalle lijn van enzymactiviteit apicaal langs de celrand wordt gevonden in de klierbuizen, die bekerzellen bevatten. Alle andere klierbuizen zijn negatief, ook die met de cilindrische cellen met donker eosinofiel cytoplasma. Overigens toont alleen het endotheel van de bloedvaten een duidelijke activiteit.

Zure fosfatase: alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit, die vooral hoog is in een apicale zoom van de cellen in de klierbuizen, die ook bekerzellen bevatten en de cellen met een helder cytoplasma. In het stroma komen verspreid talrijke cellen voor met een zeer hoge activiteit.

5-Nucleotidase: zowel in de buizen met cilindrische cellen met donker eosinofiel cytoplasma als in de buizen waarin bekerzellen voorkomen wordt een apicale zoom van enzymactiviteit gevonden. De cellen met helder cytoplasma tonen geen activiteit.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen tonen een zelfde beeld als de 5-nucleotidase-kleuring; de activiteit in de buisjes met de cellen met donker eosinofiel cytoplasma is echter slechts zwak.

Niet-specifieke esterase: (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit, behalve de cellen met helder cytoplasma. Deze zijn negatief. De activiteit is in de andere cellen diffuus in het gehele cytoplasma aanwezig.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld is hier gelijk aan dat met de vorige methode.

Leucine aminopeptidase: in de verschillende celsoorten worden geheel verschillende activiteiten gevonden. In de cellen met donker eosinofiel cytoplasma wordt een zwakke activiteit in de apicale rand gevonden, terwijl in de buizen met bekercellen een zeer hoge apicale activiteit gevonden wordt. De cellen met helder cytoplasma tonen geen enzymactiviteit.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: Het cytoplasma van alle tumorcellen is duidelijk positief, het sterkst echter dat van de cellen met helder cytoplasma.

Astrablau: met deze kleuring wordt een geheel ander beeld verkregen. De buizen met bekercellen zijn duidelijk positief, terwijl de cellen met donker eosinofiel cytoplasma slechts zwak positief zijn en de cellen met helder cytoplasma geheel negatief.

Patient 20, een 89-jarige man, had sinds drie weken klachten over misselijkheid en braken van oud voedsel. Bij laparotomie werd een stenoserende tumor in het pylorusgebied gevonden en groot ulcus aan de kleine curvatuur. Er werd een subtotale maagresectie verricht. Patient overleed acht dagen later met een sterke melaena en bronchopneumonieën. Obductie werd niet verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek:

In het maagresectiepreparaat (P.A. 6671/58) wordt vlak boven de pylorus een circulaire, 5 cm brede tumormassa gevonden met opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een ulcererend, slecht gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn, dat doorgroeit tot in de serosa en zelfs tot in de muscularis van het duodenum. In de orale resectierand bevindt zich een deel van een ulcus; zowel in de bodem, als in de rand van dit ulcus wordt soortgelijk tumorweefsel gevonden.

Ook in de achterwand van de maag wordt in de muscularis een 1 cm groot tumor-tje gevonden, dat uit soortgelijk carcinoomweefsel is opgebouwd.

Het maagslijmvlies vertoont overigens een uitgebreide intestinale metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumor is grotendeels negatief. Slechts op enkele plaatsen wordt langs de apicale celrand in de klierbuisachtige structuren een zwakke activiteit gevonden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn overal matig sterk positief. In het stroma worden verspreid talrijke sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn overal negatief. Het stroma is duidelijk positief. Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn overal negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): in het meer solide deel van de tumor wordt in het cytoplasma van een deel der cellen een duidelijke activiteit gevonden; overigens zijn de tumorcellen, met name in het meer adenocarcinomateuze deel, geheel negatief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode, doch is door het kleurcontrast wat fraaier.

Leucine aminopeptidase: in het solide deel toont het cytoplasma van de tumorcellen een hoge activiteit. In het adenocarcinomateuze deel is de tumor echter geheel negatief.

Melkzuurdehydrogenase: in alle gebieden tonen de tumorcellen een matig sterke activiteit.

De overige dehydrogenasen werden niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in het solide deel is het cytoplasma van vrijwel alle tumorcellen sterk positief. Het cytoplasma van de cellen in de klierbuizen (dit zijn merendeels afgeplatte cellen) is nergens duidelijk positief.

Astrablau: toont een overeenkomstig beeld als de P.A.S.-kleuring. Bovendien is echter het stroma, vooral in de solide delen, duidelijk positief.

Patient 21, een 75-jarige man, bleek bij laparotomie een grote cardiatumor te hebben. Er werd een grote maagresectie verricht. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek: in het maagresectiepreparaat (P.A. 3233/59) wordt vlak onder de cardia een 8 cm grote, ulcererende tumor gevonden, die tot in de serosa is doorgroeid. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een deels solide groeiend adenocarcinoom te zijn, dat tot onder het plaveiselepitheel van de oesofagus is doorgewoerd. Langs de kleine curvatuur worden talrijke lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in het solide deel van de tumor toont het cytoplasma van een deel van de tumorcellen een matige doch duidelijke activiteit, de overige cellen in het solide deel zijn negatief. In het goed gedifferentieerde deel tonen de meeste cellen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een matige activiteit in het cytoplasma. In de buizen is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma niet duidelijk sterker dan elders. In het stroma komen plaatselijk veel, sterk positieve, cellen voor.

5-Nucleotidase: de in strengetjes groeiende tumorcellen zijn deels zwak positief, deels negatief. In een der lymfkliermetastasen komen talrijke, duidelijk positieve, strengetjes voor. Een deel der buizen toont enzymactiviteit in het apicale deel van de cellen.

Adenosinetrifosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Enkele strengetjes tumorcellen tonen een zwakke activiteit, terwijl enkele buisjes een duidelijke activiteit

tonen in het apicale deel van de cellen. Het beeld komt ongeveer overeen met dat van de 5-nucleotidase-activiteit, de activiteit is echter duidelijk zwakker.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn enigszins wisselend, matig tot sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode. De activiteit lijkt echter wat zwakker.

Leucine aminopeptidase: een deel van de cellen toont een duidelijke activiteit; een deel van de buisjes toont een hoge activiteit in het apicale deel van het cytoplasma. Het aantal positieve cellen wisselt in de verschillende gebieden. In sommige gebieden komen slechts enkele positieve cellen voor.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: het cytoplasma van de meeste tumorcellen is negatief of slechts zeer zwak positief. Op enkele plaatsen zijn de tumorcellen duidelijk positief. Een positieve apicale celrand wordt in de buizen slechts op een enkele plaats gevonden.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring: ook hier slechts weinig positieve cellen en enkele positieve apicale celranden.

Colloidaal ijzer: vele buizen tonen sterk positieve apicale celranden. Overigens tonen de tumorcellen slechts op een enkele plaats een duidelijk positieve kleuring.

Patiënte 22, een 75-jarige vrouw, had sinds enkele maanden vage klachten en vermagerde sterk. Op de röntgencontrastfoto's van de maag was een grote tumor in het cardiagebied te zien. Bij operatie bleek de tumor vergroeid te zijn met de milt en het diafragma. Rondom de tripus Halleri en langs het pancreas werden lymfkliermetastasen gevonden. Er werd (palliatief) een totale maagresectie met miltextirpatie verricht. Op de vijfde dag na de operatie werd een longembolie vastgesteld. Patiënte overleed negen dagen na de operatie. Bij de obductie (S. 261/59) bleek de slokdarmnaad insufficiënt te zijn. Ter plaatse werd een abces gevonden, dat doorgebroken was in de R. pleuraholte. Metastasen van de maagtumor werden in de regionale lymfklieren, in de R. long en in de schildklier gevonden.

Pathologisch-anatomisch onderzoek: in het maagresectiepreparaat (P.A. 4381/59) wordt een ongeveer 7 cm grote bloemkoolvormige tumor gevonden in de grote curvatuur. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een weinig gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn dat doorgewoerd is tot in de serosa. De tumor groeit merendeels in kleine strengetjes; slechts op enkele plaatsen worden klierbuisachtige structuren gezien. Plaatselijk vertoont de tumor necrose.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de meeste tumorcellen die in strengetjes groeien, hebben een matig sterk positief cytoplasma. In de meeste buizen tonen de cellen een sterk positieve zoom langs de apicale celrand.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn overal zwak positief. In het stroma komen vele, zeer sterk positieve, cellen voor.

5-Nucleotidase: het beeld komt overeen met dat van de alkalische fosfatase activiteit; bovendien toont hier ook het stroma een duidelijke activiteit.

Adenosintrifosfatase: de tumorcellen zijn overal negatief. Het stroma is positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn overal matig tot sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige kleuring, de intensiteit is echter wat zwakker.

Leucine aminopeptidase: enkele solide strengetjes zijn zwak positief, overigens zijn de tumorcellen, ook in de buisjes negatief. Het stroma is plaatselijk zwak positief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: het cytoplasma van slechts enkele cellen is positief. In vele van de klierbuizen wordt een positieve apicale celrand gevonden.

Astrablau: slechts in het cytoplasma van enkele cellen wordt positief materiaal gevonden. In enkele buizen is de apicale celrand positief gekleurd.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring.

Patient 23 is een 76-jarige man, die sinds één à anderhalf jaar maagklachten heeft. Bij röntgenologisch onderzoek werd een stenoserende tumor gevonden in het antrum van de maag. Bij laparotomie werden metastasen gevonden in het omentum en in de lever. Er werd een palliatieve resectie verricht volgens Billroth II. Postoperatief traden er geen complicaties op.

Pathologisch-anatomisch onderzoek: in het maagresectiepreparaat (P.A. 5134/59) bevindt zich vlak boven de pylorus een vrijwel circulaire 6 cm brede, ulcererende tumor met sterk opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek blijkt de tumor in solide velden en strengen te groeien dwars door alle wandlagen heen. Slechts op een enkele plaats worden klierbuisachtige structuren gezien. Plaatselijk komt necrose en fibrose voor.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief. In het stroma worden vele positieve capillairen en fibroblasten gevonden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief. Tussen de tumorcellen bevinden zich vele sterk positieve macrofagen.

5-Nucleotidase: zowel in de solide gebieden als in de buizen zijn de tumorcellen negatief of slechts zeer zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: het beeld komt overeen met dat van de 5-nucleotidase activiteit. Op een enkele plaats echter worden positieve tumorstrengtjes gevonden.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): alle tumorcellen zijn duidelijk sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): alle tumorcellen zijn matig positief.

Leucine aminopeptidase: een deel van de tumorcellen toont een zwakke activiteit, de rest van de tumorcellen is negatief. De necrotische gebieden tonen een zwak rode kleur.

Barnsteenzuurdehydrogenase: alle cellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: alle tumorcellen tonen een duidelijke enzymactiviteit.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn overal duidelijk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk, op enkele plaatsen zelfs sterk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: slechts in het cytoplasma van enkele tumorcellen worden positieve bolletjes gevonden. Een duidelijk positieve apicale celrand wordt in de buizen niet aangetroffen. In de necrotische zone van de ulceratie bevinden zich vele schimmeldraden.

Astrablau: vrijwel alle tumorcellen zijn negatief. Slechts een enkele cel heeft een positief cytoplasma.

Colloidaal ijzer: slechts enkele tumorcellen tonen een positief cytoplasma.

Patient 24 is een 72-jarige man, die sinds een jaar pijn in de bovenbuik had. Op de röntgencontrastfoto van de maag was een star gebied in de pars media te zien. Bij laparotomie bleek zich hier een tumor te bevinden. Er werd een maagresectie volgens Billroth II verricht. Enkele maanden na de operatie maakte patient het uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 5789/59): in de maag bevindt zich, met de onderrand 6 cm boven de pylorus een vrijwel circulaire, 5 cm brede, ulcererende tumor. Bovendien bevindt zich 2 cm onder de tumor in de kleine curvatuur een ulcus met een diameter van drie mm. Bij microscopisch onderzoek blijken in het gebied van de tumor alle lagen van de wand doorwoerd te zijn met kleine nestjes en strengtjes carcinoomcellen, die slechts op enkele plaatsen klierbuisachtige structuren vormen. Het ulcus is een typisch ulcus pepticum chronicum zonder tekenen van maligniteit.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn op vele plaatsen matig sterk positief; ook apicaal in de buisjes is vaak een duidelijke enzymactiviteit waarneembaar.

Zure fosfatase: vrijwel alle tumorcellen zijn tamelijk sterk positief.

5-Nucleotidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: op vele plaatsen zijn de tumorcellen zwak tot matig sterk positief, in de buisjes veelal ook apicaal in de cellen. Het beeld komt ongeveer overeen met dat van de alkalische fosfatase activiteit.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn overal tamelijk sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn tamelijk sterk positief; ook langs de apicale celrand in de buisjes wordt een duidelijke activiteit gevonden. De activiteit lijkt wat lager dan die in de cellen van de intestinale metaplasie.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn tamelijk sterk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk, plaatselijk zelfs tamelijk sterk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk, wat wisselend positief.

Voor alle dehydrogenasen geldt, dat de activiteit in de tumorcellen in het algemeen hoger is dan in het normale oppervlakte-epitheel van de maag en iets lager dan in het intestinaal metaplastische epitheel.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen hebben een zwak tot matig sterk positief cytoplasma. In vele buizen tonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring. Ook de intensiteit van de kleuring komt daar goed mee overeen.

Colloidaal ijzer: deze kleuring toont een overeenkomstig beeld. De intensiteit lijkt iets hoger dan in de beide vorige kleuringen.

Patient 25 is een 52-jarige man, die sinds 6 weken voor opname slikklachten had en sterk vermagerd was. Het röntgenologisch onderzoek leverde een beeld op dat verdacht was voor een cardiatumor. Bij operatie werd een grote tumor gevonden in het cardiagebied, die in de slokdarm was vastgegroeid. Er werd een maagresectie verricht. Patient maakte het een half jaar na de operatie uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 6561/59): vlak onder de slijmvliegsrens slokdarm-maag bevindt zich een ulcererende tumor met een diameter van 3 cm. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een adenocarcinoom te zijn, dat echter in grote gebieden in solide velden groeit. Plaatselijk bestaat necrose. Langs de kleine curvatuur worden enkele lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in een deel van de buizen tonen de cellen een positieve

apicale celrand. Vooral in een lymfkliermetastase worden vele van deze positieve buizen gevonden. Overigens zijn de tumorcellen geheel negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief. In talrijke buizen is de activiteit in het apicale deel van de cellen duidelijk hoger. Ook nu is dit vooral het geval in de metastase. Het stroma bevat vele sterk positieve cellen.

5-Nucleotidase: langs de apicale celgrens wordt in een deel van de buizen een duidelijke activiteit gevonden. Dit is vooral in de primaire tumor het geval; hier wordt een dergelijke activiteit zelfs in het merendeel van de buizen gevonden. Overigens zijn de tumorcellen negatief.

Adenosinetrifosfatase: de apicale celgrens is in een deel van de buizen, vooral in de metastase positief. Overigens zijn de tumorcellen negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen tonen een zwakke tot matig sterke activiteit; in de metastase lijkt de activiteit wat hoger dan in de primaire tumor.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode; de activiteit is hier in de tumorcellen van de metastasen zelfs tamelijk sterk positief.

Leucine aminopeptidase: in de solide gebieden zijn vele cellen sterk positief. In de buizen tonen de cellen een hoge tot zeer hoge activiteit langs de apicale celgrens.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief. In de metastase lijken de tumorcellen wat sterker positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief, in de primaire tumor mogelijk iets sterker positief dan in de metastase.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: in de metastase zijn de tumorcellen zwak positief. in de primaire tumor matig sterk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: dit beeld komt overeen met dat van de isocitroenzuurdehydrogenaseactiviteit.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in het cytoplasma van vele tumorcellen en langs de apicale celrand in vele klierbuizen wordt positief materiaal gevonden; evenzo in het lumen van vele buizen.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring, doch is over het algemeen duidelijk zwakker.

Colloidaal ijzer: ook dit beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring, ook in intensiteit van de kleuring.

Patient 26 is een 50-jarige man, die 7 jaar tevoren een maagresectie onderging wegens een ulcus ventriculi, dat onvoldoende reageerde op conservatieve therapie. Bij pathologisch-anatomisch onderzoek (P.A. 2578/52) bleek de rand van het ulcus op meerdere plaatsen met adenocarcinoom doorgegroeid te zijn. Bij een laparotomie wegens een littekenbreuk, 2 jaar voor de huidige opname, werd geen tumorweefsel gezien. Patient werd thans weer opgenomen wegens melaena. Röntgenologisch bestond er nu verdenking op een tumor in het cardiagebied. Er werd nu een totale maagresectie verricht met intrathoracale anastomose. Postoperatief waren er geen complicaties. Patient maakte het 5 maanden na de operatie uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het resectiepreparaat (P.A. 6942/59): nabij het stroma wordt in de maag een in het lumen uitpuilende tumor gevonden met een diameter van 6 cm. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een weinig gedifferentieerd adenocarcinoom te zijn, dat grotendeels in solide strengetjes groeit en slechts op een enkele plaats klierbuisjes vormt. Op vele plaatsen wordt slijm geproduceerd. Er zijn enkele lymfkliermetastasen aan het preparaat aanwezig. Het histologische beeld komt overeen met dat van de 7 jaar tevoren verwijderde tumor.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: vrijwel alle tumorcellen zijn negatief. Slechts op een enkele plaats worden positieve cellen gevonden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief, mogelijk op een enkele plaats zeer zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn wisselend, zwak tot matig sterk positief. In het apicale deel van de cellen is de activiteit niet duidelijk hoger.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen tonen een zwakke, plaatselijk matig hoge activiteit.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de activiteit in de tumorcellen is zwak, plaatselijk zelfs zeer zwak.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn overal negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: in de tumorcellen wordt een zwakke tot matig sterke activiteit gevonden.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen slechts een zwakke activiteit.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: in de tumorcellen wordt een zwakke plaatselijk mogelijk iets hogere activiteit gevonden.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen hebben een duidelijk positief cytoplasma. Ook langs de apicale celrand in de enkele aanwezige buisjes wordt duidelijk positief materiaal gevonden.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring, maar bovendien is hier het stroma op vele plaatsen duidelijk positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de vorige kleuringen. De kleurcontrasten zijn hier echter wat feller.

Patiënte 27 is een 53-jarige vrouw, die sinds enkele maanden voor opname klaagde over braken en vermageren. Op de röntgencontrastfoto van de maag werd een praepylorische tumor gezien. Bij laparotomie werd inderdaad in dit gebied een tumor gevonden, waarvoor een resectie volgens Billroth I werd verricht. 1 Maand na de operatie maakte patiënte het goed.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 7279/59): vlak boven de pylorus bevindt zich een $4\frac{1}{2}$ cm brede, circulaire, stenoserende en ulcererende tumor. Bij microscopisch onderzoek blijkt dit een adenocarcinoom te zijn, dat plaatselijk in grote solide velden groeit. Er worden geen lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: in vele buizen wordt een duidelijke activiteit gevonden langs de apicale celrand. In de solide gebieden worden plaatselijk groepjes positieve cellen gevonden, de andere cellen in deze gebieden zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn wisselend, over het algemeen matig sterk positief. In het stroma worden vele, sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: in vele buizen wordt een hoge activiteit langs de apicale celrand gevonden. In de solide velden worden op vele plaatsen groepjes positieve tumorcellen gevonden.

Adenosinetrifosfatase: in vele buizen bestaat een duidelijke activiteit langs de apicale celrand. In de rest van het tumorweefsel worden slechts op een enkele plaats zwak positieve cellen gevonden. De rest van het tumorweefsel is negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn tamelijk

sterk positief. In de buizen is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma vaak wat sterker dan in de rest van het cytoplasma.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: slechts in het cytoplasma van enkele tumorcellen in de solide velden en langs de apicale celrand van enkele buisjes wordt een duidelijke activiteit gevonden. Het grootste deel van de tumor is geheel negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief. Plaatselijk is de activiteit in het apicale deel van de cellen wat hoger.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief. Ook hier is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma van de buisjesvormende tumorcellen wat hoger.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk, zij het enigszins wisselend positief. De activiteit is in het apicale deel van het cytoplasma in de buisjes plaatselijk wat hoger.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn overwegend zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de meeste klierbuizen vertonen de cellen een duidelijk positieve apicale celrand. In het solide deel van de tumor wordt slechts in een deel van de cellen positief materiaal gevonden, merendeels in de vorm van kleine bolletjes.

Astrablau: vele buizen tonen een duidelijk positieve apicale celrand, die vaak minder intensief kleurt dan in de P.A.S. kleuring. Het beeld in de solide delen komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Patient 28, een 67-jarige man, was reeds enkele jaren bekend als een lijder aan een achylia gastrica. Sinds enkele weken voor opname klaagde hij over buikpijn en braken. Bij het röntgenonderzoek van de maag werd een grote tumor gevonden in het praepylorische gebied. Er werd een subtotale maagresectie verricht. De tumor was doorgegroeid in het mesocolon, terwijl de resectieranden van het preparaat tumorweefsel bleken te bevatten. De resectie moest dus als een palliatieve ingreep beschouwd worden. 10 Dagen na de operatie moest een groot haematoom in het operatiegebied operatief ontlast worden. Patient overleed 2 maanden na de operatie.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 384/60): het preparaat is langs beide curvatures ongeveer 12 cm lang en wordt vrijwel geheel ingenomen door een onscherp begrensde tumor, die diffuus de hele wand geïnfilteerd heeft. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een adenocarcinoom te zijn, dat in alle wandlagen gewoekerd is, o.a. op vele plaatsen in het slijmvlies. Naast gebieden met klierbuisachtige structuren komen ook gebieden voor, waar de tumor in solide velden of versplinterend in kleine strengetjes groeit. Langs de curvatures en in het omentum worden talrijke metastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumor is vrijwel overal negatief. Slechts in het cytoplasma van enkele losse tumorcellen en langs de apicale celrand in enkele klierbuisjes wordt enzymactiviteit gevonden.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief. In de buizen is de activiteit in het apicale deel van het cytoplasma van de tumorcellen wat hoger. In het stroma komen vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn duidelijk positief in de solide gebieden. De activiteit lijkt wat hoger in het tumorweefsel, dat in het slijmvlies woekert, dan in het dieper gelegen tumorweefsel. In de buizen wordt slechts op een enkele plaats enzymactiviteit gevonden langs de apicale celranden.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn vrijwel overal negatief. Slechts in een deel van de buizen wordt een duidelijke activiteit gevonden langs de apicale celranden. De rest van het cytoplasma van deze cellen is zeer zwak positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief. De activiteit is het hoogst in de solide velden.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn merendeels zwak positief, slechts op enkele plaatsen duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn matig sterk positief. In de buizen wordt langs de apicale celrand slechts een zwakke activiteit gevonden. De tumorcellen die in het slijmvlies woekeren zijn sterker positief dan de rest van het tumorweefsel.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen, die in het slijmvlies woekeren zijn zeer zwak positief; in de dieper gelegen veldjes tumorweefsel is de activiteit wat hoger. In de buizen bestaat een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Melkzuurdehydrogenase: het tumorweefsel in het slijmvlies is zwak positief, het dieper gelegen tumorweefsel is matig sterk positief. In de buizen wordt een zwakke activiteit in het apicale deel van de tumorcellen gevonden.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

Isocitroenzuurdehydrogenase: alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief. In de buizen is de activiteit duidelijk hoger dan in de solide velden.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste buizen tonen een duidelijk positieve apicale celrand. In de solide gebieden bevatten talrijke cellen P.A.S.-positieve bolletjes, doch de meeste tumorcellen zijn negatief, o.a. het tumorweefsel in het slijmvlies.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring: bovendien is het stroma van de tumor duidelijk positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring.

Patient 29, een 62-jarige man, had sinds enkele maanden voor opname vage buikklachten en vermagerde. De röntgencontrastfoto van de maag gaf een beeld te zien, dat verdacht was voor een maagtumor. Bij laparotomie werd in kleine curvatuur van de maag, reikend van het diafragma tot aan het antrum en zich uitbreidend tot aan de voorwand, een vaste hobbelige tumor gevoeld, die vergroeid was met het pancreas en de aorta. Er werden talrijke lymfkliermetastasen gevonden.

Gezien het ontbreken van een passagebelemmering werd van een maagresectie afgezien en werd volstaan met de exstirpatie van een mesenteriale lymfklier.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van een mesenteriale lymfklier (P.A. 929/60): de klier is vrijwel geheel verwoest door kleine strengen en veldjes carcinoomcellen, die slechts op een enkele plaats klierbuisachtige structuren vormen. Er is veel fibreus stroma in het tumorweefsel aanwezig.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: slechts enkele buisjes tonen een duidelijke activiteit langs de apicale celrand, terwijl slechts enkele strengen een zwakke enzymactiviteit vertonen. De rest van het tumorweefsel is negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief. In het stroma worden zeer vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief. Het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief. Het stroma is positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn duidelijk positief. Enkele groepen tumorcellen zijn negatief, andere groepen zijn zeer sterk positief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: idem.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de klierbuizen zijn de apicale celranden duidelijk positief. In de overige tumorcellen worden veelal positieve bolletjes in het cytoplasma gevonden, terwijl de rest van het cytoplasma slechts zwak positief is.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring, mogelijk is het aantal cellen met positieve bolletjes in het cytoplasma wat geringer. Het stroma van de tumor is zwak positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Patient 30 is een 55-jarige man, die reeds 9 jaar geleden over maagpijn klaagde. 6 Jaar geleden onderging hij een ulcuskuur wegens een ulcus ventriculi. Ongeveer drie jaar geleden had hij weer pijn in de maagstreek die in voor- en najaar het ergste was. De laatste 6 maanden was de eetlust verminderd en was de patient vermagerd. Bij gastroscopie werd 2 cm boven de angelus een ulcus gezien met een opgeworpen rand. Bij operatie werd hoog aan de kleine curvatuur een tumor gevonden, waarvoor een totale maagresectie werd verricht. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 2579/60): in de kleine curvatuur wordt een ronde ulcererende tumor gevonden met een diameter van 5 cm. De bovenrand van de tumor ligt 2 cm onder de slijmvliesgrens van slokdarm en maag. Bij microscopisch onderzoek blijkt de tumor een adenocarcinoom te zijn, dat op vele plaatsen in solide velden groeit. De tumor is doorgegroeid tot aan de serosa. Langs de kleine curvatuur bevinden zich enkele lymfkliermetastasen. Ongeveer 3 cm naast de tumor bevindt zich een litteken van een ulcus pepticum. Overigens toont het maagslijmvlies een zeer uitgebreide intestinale- en praepylorische metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: alle tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn vrijwel negatief. In het stroma komen veel sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: slechts in een enkele buis wordt een zwak positieve apicale celrand gevonden, overigens is het tumorweefsel geheel negatief.

Adenosinetrifosfatase: in de meeste buizen wordt een zwakke activiteit langs de apicale celrand gevonden. Overigens is het tumorweefsel negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn plaatselijk zwak positief, merendeels echter negatief.

Leucine aminopeptidase: het weefsel is geheel negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn slechts zwak tot zeer zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn slechts zeer zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zeer zwak positief. In enkele buizen wordt een zwakke activiteit in het apicale deel van het cytoplasma gevonden.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in de buizen is de apicale celrand duidelijk positief. Overigens wordt slechts

in het cytoplasma van enkele cellen positief materiaal gevonden in de vorm van bolletjes.

Astrablau: de buizen vertonen zwak positieve apicale celranden. Overigens zijn de tumorcellen vrijwel nergens positief.

Colloidaal ijzer: in de buizen tonen de cellen sterk positieve apicale celranden. In de solide delen worden slechts in enkele cellen positieve bolletjes gevonden.

Patient 31 is een 63-jarige man, die 22 jaar voor de huidige opname een maag-resectie volgens Billroth II onderging wegens ulcus duodeni. Nu had de patient sinds enkele maanden weer klachten: oprispingen en bandgevoel in de bovenbuik, soms maagpijn. Bij opname werd een achloorhydrie gevonden, terwijl op de röntgen-contrastfoto van de maag een constante halfschaduw in het cardiagebied werd gezien. Bij operatie bleek zich in de achterwand van de maag een grote tumor te bevinden, waarvoor een totale maagresectie met miltextirpatie en partiele pancreasresectie werd verricht. Postoperatief ontwikkelde zich een bronchopneumonie, waarvan patient snel herstelde.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4388/60): in de achterwand bevindt zich een 6 cm grote tumor met grotendeels gladde oppervlakte, die tot in de serosa is doorgewoerd. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een adenocarcinoom te zijn, dat in de diepere lagen in meer solide strengen groeit. In het stroma bevindt zich veel ontstekingsinfiltraat, terwijl plaatselijk necrosehaardjes worden gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Slechts in enkele buizen wordt een duidelijke enzymactiviteit langs de apicale celranden gevonden, terwijl ook enkele solide celnesten een zwakke activiteit vertonen.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn duidelijk positief. In het stroma worden vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de meeste tumorcellen zijn negatief. Slechts in een enkele buis bestaat een duidelijke activiteit langs de apicale celranden.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn wisselend, merendeels zwak positief.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn negatief. In het stroma worden plaatselijk enkele positieve cellen gevonden.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen en het stroma zijn zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste buizen hebben positieve apicale celranden, terwijl in de meeste tumorcellen positieve bolletjes in het cytoplasma worden gevonden. In de solide delen is van slechts een klein deel van de tumorcellen het cytoplasma positief.

Astrablau: als de P.A.S. kleuring, doch veel zwakker.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met de P.A.S. kleuring, de apicale celranden zijn hier zeer duidelijk positief.

Patiente 32 is een 39-jarige vrouw, die sinds korte tijd voor opname maagklachten had. Bij röntgenologisch onderzoek werden multiële halfschaduwën gezien in de maag en een groot en grillig vullingsdefect, dat het meest deed denken aan een maligne tumor. Bij operatie werd een schotelvormige tumor gevonden in de grote

curvatuur. Bovendien leek de maag grotendeels opgevuld met weke poliepeuze massa's. Er werd een totale maagresectie verricht met resectie van milt en pancreasstaart. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4475/60): in de grote curvatuur wordt nabij de fundus een ulcererende tumor gevonden met een diameter van ongeveer 8 cm en opgeworpen randen. De tumor groeit tot vlak bij het pancreas door. Overigens is het maagslijmvlies sterk en onregelmatig verdikt, voelt week aan en toont een sterke polyposis. Bij microscopisch onderzoek blijkt de tumor een adenocarcinoom te zijn, dat in solide strengetjes in de diepte woekert. De poliepen tonen een duidelijke atypie en enige polymorfie van het epitheel met talrijke mitosen; infiltratieve groei wordt echter in deze poliepen niet aangetroffen. Het overige slijmvlies toont een duidelijke chronische gastritis.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de carcinoomcellen en het epitheel van de poliepen is negatief. Het stroma van het carcinoom is positief.

Zure fosfatase: de carcinoomcellen zijn duidelijk positief. Het epitheel van de poliepen is enigszins wisselend positief. In beide gevallen komen in het stroma vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: de carcinoomcellen zijn negatief; het stroma is positief. Het epitheel van de poliepen toont plaatselijk een duidelijke activiteit langs de apicale celrand.

Adenosinetrifosfatase: zowel de carcinoomcellen als het epitheel van de poliepen is negatief. Het stroma is in beide gevallen positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de carcinoomcellen zijn plaatselijk zwak positief; in het stroma komen vele positieve cellen voor. De epitheelcellen van de poliepen tonen, vooral in de diepere lagen, een duidelijke activiteit.

Leucine aminopeptidase: de carcinoomcellen zijn overal negatief, de necrose in de ulcusbodem kleurt zich zwak positief. Het epitheel van de poliepen is negatief, terwijl het stroma plaatselijk positief is.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de carcinoomcellen zijn zwak positief, het epitheel van de poliepen is wisselend doch in het algemeen duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: zowel de carcinoomcellen als het epitheel van de poliepen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de carcinoomcellen zijn zwak positief, het epitheel van de poliepen is duidelijk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: zowel de carcinoomcellen als het epitheel van de poliepen is duidelijk positief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de carcinoomcellen en het epitheel van de poliepen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste carcinoomcellen zijn negatief, slechts enkele cellen zijn duidelijk positief; in de necrose op de ulcusbodem worden vele positieve schimmeldraden gevonden. Het epitheel van de poliepen is deels zeer sterk positief in het apicale deel van de cel, deels tonen de cellen een positieve apicale celrand, deels zijn de cellen negatief.

Astrablauw: het beeld komt overeen met de P.A.S. kleuring voor zover het de carcinoomcellen betreft. De schimmeldraden zijn echter negatief. In de poliepen zijn de meeste buizen negatief en wordt slechts in enkele buizen een positieve apicale celrand gevonden.

Colloidaal ijzer: de carcinoomcellen tonen eenzelfde beeld als in de P.A.S. kleuring; de schimmeldraden zijn zwak positief. In de poliepen tonen de meeste cellen een duidelijke positiviteit in het apicale deel van de cel, in andere buizen zijn slechts de apicale celranden positief.

Groep C: Overwegend ongedifferentieerde carcinomen

Patient 33 is een 42-jarige man, die reeds 5 jaar maagklachten had, die niet reageerden op een rustkuur. Bij laparotomie werd een groot ulcus gevonden aan de achterzijde van de maag. Een vriescoupe, gemaakt tijdens de operatie, toonde het beeld van een adenocarcinoom. Er werd een subtotale maagresectie verricht, met miltexstirpatie en resectie van de pancreasstaart. Ongeveer 5 maanden later werd patient weer opgenomen. Er bleek een ascites te bestaan, waarin carcinoomcellen werden gevonden. Korte tijd na zijn ontslag is patient overleden. Er werd geen obductie verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 5059/58): het ulcus meet $1 \times 1\frac{1}{2}$ cm, heeft vaste, opgeworpen randen en reikt tot diep in het omgevende vetweefsel en tot in het pancreas, dat een sterke fibrose vertoont in dit gebied. Bij microscopisch onderzoek toont het ulcus talrijke kenmerken van een ulcus pepticum: de beide spierlagen neigen naar elkaar toe, doch bereiken elkaar niet, maar eindigen beide in de ulcusbodem; talrijke bloedvaten in de ulcusbodem zijn geobliteerd en er worden vele hyperplastische zenuwbundeltjes in dit gebied gevonden. Bovendien echter blijken het slijmvlies nabij het ulcus, de submucosa, de muscularis en de ulcusbodem op vele plaatsen doorwoekerd te zijn met nesten en strengtjes van een versplinterend groeiend carcinoom, dat slechts op een enkele plaats buisachtige structuren lijkt te vormen. In enkele lymfklieren worden metastasen gevonden. In de rand van het ulcus groeit het carcinoom vrijwel alleen in het slijmvlies door, laat de muscularis mucosae intact en infiltreert slechts plaatselijk in de submucosa.

Conclusie: ongedifferentieerd carcinoom, mogelijk carcinoma ex ulcere.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief. De fibroblasten in de ulcusbodem zijn duidelijk positief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn negatief. In het fibreuze deel van de ulcusbodem komen verspreid vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn negatief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn sterk positief. Dit is vooral het geval in de versplinterend groeiende delen; zodra de cellen in groepjes bijeen liggen lijkt de activiteit wat lager. In de bodem van het ulcus bevindt zich een zone, waarin vele, zwak positieve fibroblasten. In het aangrenzende slijmvlies wordt geen intestinale metaplasie gevonden. Ook in de metastasen zijn de tumorcellen sterk positief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: vele losliggende tumorcellen zijn positief.

Astrablau: slechts enkele tumorcellen zijn positief.

Patiënte 34 is een 66-jarige vrouw, die sinds enkele maanden bovenbuisklachten had. Röntgenologisch werd een stenose in het cardiagebied gezien. Bij operatie werd hier een vuistgrote tumor gevonden met metastasen op de serosa en in de lymfklieren rondom de tripus Halleri. Er werd een palliatieve gastrostomie aangelegd. Patiënte is 9 maanden na de operatie overleden.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van een bij de operatie verwijderd serosaknobbelkje (P.A. 982/59): het materiaal is diffuus doorwoekerd met kleine veldjes sterk slijmvormende carcinoomcellen met talrijke zegelringcellen (colloid carcinoom).

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: alle tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn wisselend, doch in het algemeen sterk positief.

5-Nucleotidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief. Het stroma is positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen vertonen slechts zeer geringe activiteit.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: alle tumorcellen zijn sterk positief.

Astrablau: alle tumorcellen zijn sterk positief.

Colloidaal ijzer: de tumorcellen zijn zwak positief.

Patiënte 35 is een 63-jarige vrouw, die reeds 20 jaar maagklachten had. Bij röntgenologisch onderzoek werd een ulcus aan de kleine curvatuur gezien. Bij laparotomie werd hier een groot ulcus gevoeld, waarvoor een maagsectie volgens Billroth II werd verricht. Ruim een jaar na de operatie maakte patiënte het goed.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagsectiepreparaat (P.A. 1330/59): in de kleine curvatuur bevindt zich 5 cm boven de pylorus een ulcus met een diameter van 1½ cm en overhangende randen. Bij microscopisch onderzoek blijkt er in de ulcusbodem een sterke fibrose te bestaan van de submucosa en van de muscularis. De muscularis is niet onderbroken, wel vloeit in de ulcusrand de muscularis mucosae samen met de muscularis. De ulcusbodem is voor een groot deel gereëpithelialiseerd. Zowel de ulcusbodem als de omgevende submucosa en de mucosa zijn diffuus geïnfilteerd met kleine strengtjes carcinoomcellen, die door de muscularis heen tot in de serosa groeien. Plaatselijk worden de cellen van het zegelringtype gevonden. Klierbuisachtige structuren worden slechts op een enkele plaats gevonden. Aan het preparaat worden enkele lymfkliermetastasen gevonden.

Conclusie: ongedifferentieerd carcinoom, mogelijk carcinoma ex ulcere.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: vrijwel alle tumorcellen zijn positief.

5-Nucleotidase: slechts op een enkele plaats is het tumorweefsel zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: de meeste tumorcellen zijn zwak positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): idem.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen tonen een hoge tot zeer hoge activiteit.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: vrijwel alle tumorcellen zijn positief. In de enkele aanwezige buizen is de apicale celrand positief.

Astrablau: als P.A.S.

Colloidaal ijzer: idem.

Patiënt 36 is een 67-jarige man, die sinds $\pm$ 9 maanden maagklachten had en sterk vermagerde. Bij laparotomie werd een diffuse verdikking van de gehele maagwand gevonden. Er werd een totale maagsectie verricht met interpositie van een jejunumlis tussen de oesophagus en het duodenum. 5 Maanden na de operatie maakte patiënt het uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4142/59): de wand van de maag is stug en diffuus sterk verdikt tot 1 à 1½ cm. Het slijmvlies lijkt overal intact. Bij microscopisch onderzoek blijkt de gehele maagwand van de mucosa tot en met de serosa doorwoekerd te zijn met een versplinterend groeiend carcinoom, dat slechts op enkele plaatsen kleine klierbuisjes vormt.

De mucosa is op vele plaatsen met carcinoom doorgroeid doch elders nog gaaf.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn duidelijk, op vele plaatsen zelfs vrij sterk positief (fig. 25).

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn op vele plaatsen zwak positief. In de klierbuisjes wordt een duidelijke activiteit langs de apicale celranden gevonden.

Adenosinetrifosfatase: het beeld komt overeen met dat van de 5-nucleotidase activiteit.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief. In het apicale deel van het cytoplasma in de klierbuizen lijkt de activiteit wat hoger.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): het beeld komt overeen met dat van de vorige methode.

Leucine aminopeptidase: vrijwel alle tumorcellen zijn matig tot sterk positief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de buizen tonen een duidelijk positieve apicale celrand. De lumina bevatten veel sterk positief materiaal. In de solide strengetjes wordt in het cytoplasma van slechts een deel van de cellen positief materiaal gevonden.

Astrablau: slechts in enkele buizen zijn de apicale celranden duidelijk positief. De rest van de buizen is negatief. De solide gebieden zijn vrijwel negatief.

Colloidaal ijzer: een deel van de buizen toont duidelijk positieve apicale celranden. Het aantal positieve buizen is kleiner dan in de P.A.S. kleuring doch groter dan in de astrablaukleuring. De solide strengen zijn slechts zwak positief.

Patient 37 is een 68-jarige man, die zich gezond voelde tot hij 14 dagen voor opname begon te braken. Bij opname werd op de röntgencontrastopname van de maag een deformatie van het antrum gezien. Bij laparotomie werd een praepylorische tumor gevonden met lymfkliermetastasen rond om de tripus Halleri en mogelijk ook metastasen in de lever. Palliatief werd een subtotale maagresectie verricht. 7 Maanden later bleek de afvoerende lis sterk vernauwd te zijn door een lokaal recidief, dat niet resectabel was. Er werd een gastro-jejunostomie aangelegd.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4458/59): het praepylorische gebied voelt zeer vast en verdikt aan en is op doorsnede glazig grijs-wit. Bij microscopisch onderzoek blijken in dit gebied alle lagen van de wand diffuus doorwoekerd te zijn met kleine veldjes en strengetjes carcinoomcellen. Het orale resectievlak is niet vrij van tumorweefsel. Langs de curvaturen worden talrijke lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn alle negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief of slechts zeer zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: idem.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn matig tot sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): idem.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen tonen een zeer hoge activiteit (fig. 28).
Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: talrijke tumorcellen hebben een positief cytoplasma, vele anderen echter zijn geheel negatief.

Astrablau: alle tumorcellen hebben een zwak positief cytoplasma. Het stroma is duidelijk positief, hetgeen een fraai contrast vormt met de negatieve muscularis.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablau-kleuring.

Patient 38 is een 76-jarige man, die reeds 7 jaar maagklachten had, waarvoor hij herhaaldelijk onderzocht was. Dit onderzoek zou steeds negatief uitgevallen zijn. De laatste tijd werden de klachten veel heftiger. Bij röntgenologisch onderzoek werd hoog aan de kleine curvatuur een beeld gezien dat enige verdenking wekte op maligniteit. Bij laparotomie werd hier een ulcus gevoeld waarvoor een subtotale maagresectie volgens Billroth II werd verricht. Ongeveer 6 maanden na de operatie maakte patient het goed.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 4694/59): in de kleine curvatuur bevindt zich ongeveer 10 cm boven de pylorus een 2/3 cm groot ulcus. Bij microscopisch onderzoek toont dit ulcus het beeld van een ulcus pepticum chronicum. Nabij het ulcus is het slijmvlies echter op vele plaatsen verwoest door een woeking van slijmvormende carcinoomcellen. Deze woeking blijft in de gemaakte coupes overal beperkt tot het slijmvlies. In de rand en de bodem van het ulcus worden geen tumorcellen gevonden. Overigens toont het slijmvlies van de maag een uitgebreide intestinale en praepylorische metaplasie.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief.

Adenosintrifosfatase: de tumorcellen zijn nergens duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn deels zwak positief, deels negatief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen tonen een hoge activiteit, vaak zelfs een zeer hoge, doch enkele groepen zijn zwak positief of zelfs negatief.

Dehydrogenasen: niet onderzocht.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de tumorcellen hebben een positief cytoplasma.

Astrablau: de tumorcellen zijn zwak positief.

Colloidaal ijzer: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Patient 39 is een 68-jarige man, die sinds drie maanden voor opname slikklachten had en vermagerde. Het röntgenbeeld van de cardia was suspect voor een maligne tumor. Bij laparotomie werd in dit gebied inderdaad een tumor gevonden, waarvoor een maagresectie werd verricht. Drie maanden na de operatie verkeerde patient in goede toestand.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 5022/59): in het cardiagebied is de maagwand over een oppervlakte van 6 bij 4 cm sterk verdikt en voelt stug aan. Het slijmvlies toont hier een onregelmatig aspect. Bij microscopisch onderzoek blijken alle lagen van de wand dicht doorgroeid te zijn met solide veldjes en kleine strengetjes carcinoomcellen, die nergens duidelijke klierbuizen vormen. Er worden aan het preparaat geen lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: het cytoplasma van vrijwel alle tumorcellen is duidelijk positief.

Zure fosfatase: alle tumorcellen zijn duidelijk positief. In het stroma worden vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): het cytoplasma van alle tumorcellen is duidelijk positief (fig. 27).

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: alle tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: idem.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief. De activiteit is duidelijk hoger dan die van de andere dehydrogenasen.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: vrijwel alle tumorcellen hebben een duidelijk positief cytoplasma.

Astrablau: evenals in de P.A.S. kleuring tonen ook hier de tumorcellen een duidelijk positief cytoplasma, terwijl het tumorstroma zwak positief is.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring, het stroma is echter wat sterker positief.

Patient 40 is een 75-jarige man, die reeds 2 jaar voor opname maagklachten had. Bij röntgenologisch onderzoek werden toen geen afwijkingen gevonden. Nu had patient sinds 2 maanden weer last van maagpijn en opboeren. Op de röntgen-contrastfoto werd thans een grote tumor in het antrum gezien. Bij laparotomie werd hier inderdaad een grote tumor gevonden met talrijke lymfkliermetastasen. Er werd een totale maagresectie verricht met oesofago-duodenostomie. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 5159/59): in de kleine curvatuur bevindt zich een grillig 5 cm groot ulcus met opgeworpen randen. Bij microscopisch onderzoek blijken de rand en de bodem van het ulcus doorwoerd te zijn met solide nesten en strengen carcinoomcellen. Er komen talrijke zegelringcellen in voor. Er zijn geen histologische aanwijzingen voor een carcinoma ex ulcere. Er worden diverse lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: er worden talrijke groepen positieve tumorcellen gevonden, vooral in de onderzochte lymfkliermetastase. De rest van het tumorweefsel is negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn deels duidelijk, deels zwak positief.

5-Nucleotidase: het cytoplasma van de tumorcellen is overal negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief, in de metastase zelfs duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): in de maagwand zijn de tumorcellen zeer zwak positief, op vele plaatsen zelfs negatief. In de metastase daarentegen zijn de tumorcellen zwak tot matig sterk positief.

Leucine aminopeptidase: in de primaire tumor zijn de tumorcellen merendeels negatief, slechts op enkele plaatsen worden groepjes sterk positieve cellen gevonden. In de metastase daarentegen zijn de meeste cellen sterk positief (fig. 29).

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn wat wisselend, meestal zwak positief, soms vrijwel negatief; in de metastase zijn de tumorcellen duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn wisselend, meestal zwak positief, doch over het algemeen sterker positief dan bij de vorige methode.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief in de metastasen zelfs plaatselijk tamelijk sterk positief, doch elders slechts zeer zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief, in de klier mogelijk iets sterker dan in de primaire tumor.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn overal duidelijk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen zijn duidelijk positief, sommige groepjes zijn zwak positief of juist zeer sterk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: toont een overeenkomstig beeld, het stroma is hier duidelijk positief.

Patient 41 is een 57-jarige man, die sinds een jaar klaagde over anorexie en braken. Op de röntgencontrastfoto van de maag werd een tumor in de pars media gezien. Er werd een totale maagresectie verricht. Op de derde dag na de operatie raakte patient in shock. Bij relaparotomie werd een uitgebreide peritonitis gevonden, waaraan patient kort na de operatie overleed. Bij obductie (S 350/59) werd geen duidelijke oorzaak voor deze peritonitis gevonden.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 5866/59): in de maag bevindt zich een max. 7 cm grote, ulcererende tumor, die tot vlak bij de orale resectierand reikt. De onderrand ligt ongeveer 5 cm boven de pylorus. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een carcinoom te zijn, dat in kleine strengetjes door alle wandlagen heengroeit. Klierbuisjes worden nergens gevormd. Aan het preparaat wordt slechts een enkele lymfkliermetastase gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn alle negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig tot tamelijk sterk positief. Vooral in de oppervlakkige lagen komen talrijke zeer sterk positieve tumorcellen voor.

5-Nucleotidase: slechts op enkele plaatsen worden zwak positieve tumorcellen gevonden. De meeste tumorcellen zijn echter negatief.

Adenosinetrifosfatase: idem.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): vrijwel alle tumorcellen zijn positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): idem.

Leucine aminopeptidase: enkele groepen tumorcellen zijn positief, de meeste tumorcellen zijn echter negatief. De verdeling in positieve en negatieve gebieden komt vrijwel overeen met die in de 5-nucleotidase- en adenosinetrifosfatase kleuringen.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de meeste tumorcellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: vrijwel alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: zowel de tumorcellen als het stroma zijn zwak positief.

Colloidaal ijzer: de meeste tumorcellen zijn positief, plaatselijk echter zwak positief, terwijl het stroma duidelijk positief is.

Patient 42 is een 50-jarige man, bij wie 2 jaar geleden een maagresectie volgens Billroth I verricht werd wegens een ulcus carcinomatosum. Sindsdien had patient steeds maagklachten gehouden. Het röntgencontrastonderzoek van de maag leverde een beeld op, dat verdacht was voor een recidief in de anastomose. Bij laparotomie werd een tumor in het distale deel van de maag gevonden. Er werd een totale maagresectie verricht. Patient verkeerde 4 maanden na de operatie in een redelijke toestand.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 6443/59): in een vlak boven de distale resectierand gelegen 6×7 cm groot gebied is de wand sterk verdikt, doch het slijmvlies lijkt hier intact. De tumor reikt tot 2 cm van het orale sneevlak. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een carcinoom te zijn, dat in kleine strengetjes door alle wandlagen heenwoekert; klierbuisjes worden nergens gevormd. Er zijn enkele lymfkliermetastasen aan het preparaat aanwezig.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief, plaatselijk zeer zwak positief. Tussen de tumorcellen worden vele fibroblasten gevonden, die een duidelijke enzymactiviteit vertonen.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief. In het stroma worden plaatselijk vele sterk positieve cellen gevonden.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn nergens duidelijk positief.

Fibroblasten in het stroma zijn zwak positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de meeste tumorcellen zijn matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn wisselend, zwak tot zeer zwak positief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke tot matig sterke activiteit.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn vrijwel negatief.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de meeste tumorcellen zijn zwak tot matig sterk positief, het stroma is zwak positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de beide vorige kleuringen doch is in het algemeen wat sterker gekleurd.

Patient 43 is een 50-jarige man, van wie reeds enkele jaren bekend was, dat hij een achylia gastrica had. Zijn reeds lang bestaande maagklachten waren de laatste tijd voor opname verergerd. Op de röntgencontrastfoto van de maag werd een ulcus nabij de angulus gevonden. Er werd een maagresectie volgens Billroth II verricht. Ongeveer een half jaar na de operatie maakte patient het uitstekend.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het maagresectiepreparaat (P.A. 6938/59): in de kleine curvatuur bevindt zich 6 cm boven de pylorus een ongeveer rond ulcus met een diameter van 1 cm. Bij microscopisch onderzoek blijkt het ulcus een fibreuze bodem te hebben. De muscularis is in de ulcusbodem onderbroken en door fibreus weefsel vervangen. De muscularis en de muscularis mucosae komen plaatselijk samen in de ulcusrand. Plaatselijk wordt in de ulcusrand een proliferatie gevonden van atypische en polymorfe epitheliale cellen, die slechts op een enkele plaats klierbuisvormen, doch overigens een solide structuur vertonen. Dit weefsel wordt

zowel onder als boven de muscularis mucosae gevonden. De diagnose wordt gesteld op een klein carcinoom in de rand van een *ulcus pepticum chronicum*. Er worden geen lymfkliermetastasen gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een matig sterke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn overal zeer sterk positief en vallen sterk op temidden van de negatieve overige structuren.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een tamelijk hoge activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: het beeld komt overeen met dat van de P.A.S. kleuring.

Colloidaal ijzer: idem.

Patient 44 is een 28-jarige man, die wegens maagklachten onder behandeling kwam. Bij laparotomie werd een inoperabel maagcarcinoom gevonden. Voor pathologisch-anatomisch onderzoek werd een tumorknobbeltje langs de kleine curvatuur verwijderd, waarna de buik onverrichter zake gesloten werd.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het verwijderde weefsel (P.A. 406/60): het materiaal bestaat uit gefibroseerd vetweefsel, waarin strengen en groepen van een versplinterend groeiend carcinoom worden gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief, het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): de tumorcellen zijn slechts zeer zwak positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen tonen een zwakke activiteit.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen: niet onderzocht.

Patient 45 is een 51-jarige man, die sinds ruim een half jaar klaagde over verslikken, anorexie, een vol gevoel en borrelingen in de buik. Ongeveer 9 jaar geleden had patient reeds een kuur ondergaan wegens een *ulcus ventriculi*. Bij onderzoek werd een achylie gevonden, terwijl het röntgenbeeld van de maag verdacht was voor een uitgebreide tumor in het gebied van de cardia. Bij operatie werd een mansvuistgrote circulaire tumor gevonden, die doorgegroeid was in het omgevende weefsel. Zowel

op het peritoneum als in enkele lymfklieren werden metastasen gevonden. Wegens het ontbreken van passagetoornissen werd de buik na het nemen van enkele proef-excisies uit de primaire tumor en enkele van zijn metastasen weer gesloten. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van de proefexcisies uit de tumor en uit het omentum majus, het mesocolon en de serosa van de maag (P.A. 2139/60): overal wordt tumorweefsel aangetroffen, dat is opgebouwd uit kleine strengtjes en veldjes slijmvormende carcinoomcellen, die plaatselijk buisjes vormen.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen vertonen een matig hoge enzymactiviteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn matig sterk positief.

Adenosinetrifosfatase: idem.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de tumorcellen zijn overal duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): idem.

Leucine aminopeptidase: vrijwel alle tumorcellen tonen een zeer hoge activiteit.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn alle positief.

Melkzuurdehydrogenase: idem.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: alle cellen zijn duidelijk positief, merendeels zelfs zeer sterk positief.

Astrablau: als P.A.S.

Colloidaal ijzer: idem.

Patient 46 is een 55-jarige man, die 18 jaar voor de huidige opname een maag-resectie onderging volgens Billroth II wegens een ulcus duodeni. 7 Jaar later klaagde hij over profuse diarrhoe en werd er een achylie gevonden. 3 Jaar geleden kreeg patient weer klachten en werd er bij röntgenologisch onderzoek een beeld gevonden, dat verdacht was voor een tumor aan de kleine curvatuur. Bij laparotomie werd een grote maagtumor gevonden, waarvoor een herresectie werd verricht. Bij pathologisch-anatomisch onderzoek (P.A. 5516/57) bleek de tumor een diffuus infiltrerend ongedifferentieerd carcinoom te zijn. Er werden enkele lymfkliermetastasen gevonden. Korte tijd na de operatie had patient weer klachten gekregen. Bij röntgenologisch onderzoek bleek er thans een starre vernauwing in het cardiagebied te bestaan. Bij operatie bleek deze veroorzaakt te zijn door een tumormassa, die de anastomose dicht drukte. Enkele metastasen op het peritoneum viscerale werden voor pathologisch-anatomisch onderzoek verwijderd. Van een resectie werd afgezien. Patient overleed 3 maanden na deze laatste operatie. Er werd geen obductie verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek: de metastasen (P.A. 3153/60) tonen het beeld van een ongedifferentieerd carcinoom, dat versplinterend groeit. Het beeld komt overeen met dat van het 3 jaar tevoren verwijderde maagcarcinoom.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: een deel van de tumorcellen toont een duidelijke activiteit, een ander deel is geheel of vrijwel negatief.

Zure fosfatase: alle tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen tonen een zwakke tot matig sterke enzymactiviteit.

Adenosinetrifosfatase: de meeste tumorcellen zijn matig sterk positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen tonen een hoge tot zeer hoge enzymactiviteit.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke, soms matig sterke activiteit.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een matige activiteit.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: zowel de tumorcellen als het stroma zijn matig sterk positief.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een matige activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen tonen slechts een zwakke tot zeer zwakke enzymactiviteit.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: als de P.A.S. kleuring, bovendien is het stroma positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring.

Patient 47 is een 62-jarige man, bij wie 33 jaar geleden een maagresectie volgens Billroth II werd verricht wegens een ulcus pepticum. Sindsdien had patient geen klachten meer, tot hij drie maanden voor de huidige opname weer maagklachten kreeg met anorexie en sterke vermagering. Bij röntgenologisch onderzoek bleek de anastomose vernauwd te zijn, het beeld was zeer verdacht voor maligniteit. Bij operatie werd een diffuus infiltrerende maagtumor gevonden, doorgroeid tot in de lever en met metastasen in het mesocolon en in de radix mesenterii. Van verder operatief ingrijpen werd afgezien. Voor pathologisch-anatomisch onderzoek werden proefexcisies uit de maagtumor, de lever, het omentum majus en het mesocolon genomen.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van de genoemde proefexcisies (P.A. 3470/60): in alle stukjes worden groepjes en strengtjes van een versplinterend groeiend carcinoom gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief.

Leucine aminopeptidase: alle tumorcellen zijn negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn slechts zwak tot zeer zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Isocitroenzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: zowel de tumorcellen als het stroma zijn zwak positief, waardoor de tumorcellen nauwelijks opvallen.

Colloidaal ijzer: de tumorcellen zijn duidelijk positief, terwijl het stroma slechts zwak positief is.

Patiënte 48 is een 24-jarige vrouw, die sinds haar 16e jaar maagklachten had. De laatste maanden waren de klachten verergerd. Bij röntgenologisch onderzoek werd een beeld gevonden, dat zeer suspect was voor een stenoserende tumor in de

fundus van de maag. Bij operatie bleek de maag veranderd te zijn in een dikwandige starre buis, die vergroeid was met het colon transversum. In het colon ascendens werd een stricturerende tumor gepalpeerd. Van een resectie werd afgezien en er werd slechts een ileotransversostomie aangelegd. Voor pathologisch-anatomisch onderzoek werd een proefexcisie uit de maagwand verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek (P.A. 4171/60 geeft het beeld van een sterk infiltratief woekarend ongedifferentieerd carcinoom te zien. Om de tumorcellen heen wordt veel stroma gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn zwak positief.

Leucine aminopeptidase: een deel van de tumorcellen tonen een zwakke activiteit, de meeste tumorcellen echter zijn negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Melkzuurdehydrogenase: idem.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit.

Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen tonen een zwakke activiteit.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: alle tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: zowel de tumorcellen als het stroma zijn duidelijk positief.

Colloidaal ijzer: het beeld komt overeen met dat van de astrablaukleuring.

Patient 49 is een 68-jarige man, die bekend was als een lijder aan pernicieuze anaemie en die wegens progressieve maagklachten onderzocht werd. Röntgenologisch werd een beeld gezien, dat zeer verdacht was voor een groot maagcarcinoom. Bij laparotomie werd een vuistgrote tumor gevonden, in het corpus van de maag, zich uitbreidend in het colon transversum, de pancreasstaart en de regionale lymfklieren. Er werd palliatief een totale maagresectie gedaan met resectie van de milt, de pancreasstaart en een deel van het colon transversum. Aanvankelijk was het post-operatieve beloop ongestoord. Op de 6e dag na de operatie overleed patient echter acuut onder het beeld van een massale longembolie. Obductie werd niet verricht.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het resectiepreparaat (P.A. 5051/60): in de maag bevindt zich een circulaire max. 7 cm grote ulcererende tumor, die tot in de omgevende organen is doorgroeid. Bij microscopisch onderzoek blijkt het een in solide strengetjes woekarend carcinoom te zijn, dat plaatselijk van het scirrheuze type is. Er zijn vele lymfkliermetastasen.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn plaatselijk positief, het stroma is vrijwel overal positief.

Zure fosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief. In het stroma komen zeer vele sterk positieve cellen voor.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief, het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn negatief, het stroma is zwak positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn zeer zwak positief.

Leucine aminopeptidase: de tumorcellen zijn overal negatief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen vertonen een zwakke activiteit.

Melkzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.
 β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn duidelijk positief.
Isocitroenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.
Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: in vele tumorcellen worden duidelijk positieve bolletjes gevonden, de overige tumorcellen zijn negatief.

Astrablau: enkele tumorcellen zijn duidelijk positief; overigens zijn de tumorcellen negatief. Het stroma is positief.

Colloidaal ijzer: vele tumorcellen zijn duidelijk positief, evenals het stroma.

Patient 50 is een 49-jarige man, die 7 jaar geleden een maagresectie onderging wegens een ulcus pepticum. Na een korte periode zonder klachten kreeg patient opnieuw last van maagpijn. De laatste tijd had hij vooral last van misselijkheid en hij vermagerde duidelijk. Röntgenologisch toonde de anastomose een pathologisch beeld. Bij laparotomie was de maagwand duidelijk verdikt. Een vriescoupe van een proefexcisie uit de maagwand toonde infiltratie met kleine groepjes en strengetjes carcinoomcellen. Er werd een herresectie verricht. Het postoperatieve beloop was ongestoord.

Pathologisch-anatomisch onderzoek van het resectiepreparaat (P.A. 5794/60): rondom de anastomose is de wand van maag en dunne darm sterk verdikt. Dit verdikte gebied breidt zich ongeveer 5 cm in de darm uit en ongeveer 8 cm in de maag, in de kleine curvatuur zelfs tot in het orale resectievlak. Bij microscopisch onderzoek blijken in dit verdikte gebied de serosa, de muscularis en de submucosa, plaatselijk ook het slijmvlies, geïnfilteerd te zijn door strengetjes van een versplinterend groeiend carcinoom. Klierbuizen worden nergens gevonden.

Enzymkleuringen:

Alkalische fosfatase: de tumorcellen zijn negatief.

Zure fosfatase: de meeste tumorcellen tonen een duidelijke activiteit.

5-Nucleotidase: de tumorcellen zijn negatief, het stroma is positief.

Adenosinetrifosfatase: de tumorcellen zijn zwak positief, het stroma is duidelijk positief.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode): de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Leucine aminopeptidase: de meeste tumorcellen zijn matig sterk positief.

Barnsteenzuurdehydrogenase: de tumorcellen zijn zwak positief.

Melkzuurdehydrogenase: idem.

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: idem.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase: idem.

Slijmkleuringen:

P.A.S.: de tumorcellen zijn duidelijk positief.

Astrablau: de tumorcellen zijn duidelijk positief, evenals het stroma.

Colloidaal ijzer: de tumorcellen zijn duidelijk positief, het stroma is zwak positief.

AANHANGSEL III

Enzymkleuringen

Het resectiepreparaat wordt (liefst droog, eventueel in fysiologische zoutoplossing) zo snel mogelijk van de operatiekamer overgebracht naar het laboratorium, waar stukjes worden uitgenomen, die enkele millimeters dik zijn en maximaal 2 à 3 cm groot. Deze stukjes worden met koolzuursneeuw op messingtafeltjes vastgevroren. Voor een goede hechting is het aan te bevelen eerst een stukje nat filtreerpapier op het messingtafeltje te leggen, daarop pas het weefselstukje. Het tafeltje wordt daarna in de cryostaat gebracht.

Deze cryostaat is volgens de principes van COONS c.s. (1951) gebouwd door de firma Esta te Amersfoort. De temperatuur wordt met een thermostaat op -16° tot -18° C gehandhaafd. In de cryostaat is een parafinemicrotroom van Spencer geplaatst, dat wordt gesmeerd met tellus-olie nr. 23, die ook bij -40° C nog voldoende smerend vermogen bezit. De genoemde messingtafeltjes worden als snijtafeltjes in het microtroom gebruikt.

Om het oprollen van de vriescoupes tegen te gaan wordt gebruik gemaakt van een door LINDERSTRØM-LANG en MOGENSEN (1938) ontworpen apparaatje, dat op het microtroommes wordt geplaatst. Dit instrumentje bestaat uit een wegklapbaar objectglasje, dat evenwijdig aan en op gelijke hoogte met de snijrand van het mes ligt. Door dunne celluloidstripjes wordt het glas op ongeveer 50μ afstand van het mes gehouden, waardoor de coupes tussen het mes en dit objectglasje glijden.

Doordat de coupes in de cryostaat niet ontdooien, blijven zij handelbaar en kunnen op de juiste plaats op het objectglas gebracht worden. Door daarna de vinger onder het glas te houden ontdooit de coupe even en vriest daarna weer vast op het objectglas. De coupes worden (maximaal gedurende 2 weken) bewaard bij ongeveer -20° C tot zij voor de enzymkleuringen worden gebruikt.

ENKELE ALGEMENE VOORSCHRIFTEN

Formaline-calciumchloride-Macrodex fixatiemiddel

Het formaline-calciumchloride-Macrodex fixatiemiddel heeft de volgende samenstelling:

formaline 40%	10 cc
1% waterige calciumchloride	10 cc
Macrodex	80 cc

Onder in de fles bevindt zich een laag calciumcarbonaat. Macrodex is een 6% oplossing van dextran in fysiologisch zout.

Kernechtrood

5 gr aluminiumsulfaat oplossen in 100 cc aqua dest. onder verhitten. Aan de hete oplossing 0,1 gr kernechtrood toevoegen, oplossen en na afkoelen filtreren. Bewaren bij 4° C.

Glycerine-gelatine

7 gr gelatine 2 uur weken in 42 cc aqua dest. Vervolgens toevoegen 50 gr glycerine. Het verkregen mengsel 10–15 min. onder omroeren op het waterbad verwarmen. Heet filtreren door vochtige glaswol en aan het filtraat een kristal thymol toevoegen. Een kleine hoeveelheid voor gebruik in warm water vloeibaar laten worden.

Alle oplossingen worden, tenzij anders vermeld, in aqua dest. gemaakt.

Bij de alkalische fosfatase, zure fosfatase, 5-nucleotidase en adenosine-trifosfatase kleuringen kan na de kleuring met kernechtrood en het spoelen in aqua dest. ook direct ingebed worden in glycerine-gelatine zonder voorafgaande ontwatering.

KLEURINGSVOORSCHRIFTEN VOOR CRYOSTAATCOUPES

Haematoxiline-eosinekleuring van cryostaatcoupes

1. cryostaatcoupes.
2. fixeren in formaline 4% gedurende 10 minuten.
3. spoelen in aqua dest.
4. haematoxyline (Böhmer), 5 à 10 minuten.
5. spoelen in leidingwater, 10 minuten.
6. kort spoelen in alcohol 70%, daarna even in alcohol 96%.
7. alcoholische eosineoplossing 1 minuut.
8. kort spoelen in alcohol 96%, daarna via absolute alcohol, carbolxylol insluiten in neutrale balsem (malinol b.v.).

Vetkleuring met Sudan III

1. cryostaatcoupes.
2. fixeren in formaline 4% gedurende 10 min.
3. spoelen in aqua dest.
4. spoelen in alcohol 50%.
5. 20 minuten in gefiltreerde alcoholische Sudan III oplossing.
6. spoelen in alcohol 50%.
7. spoelen in aqua dest.
8. haematoxyline (Böhmer), 3–5 minuten.
9. spoelen in leidingwater, 10 minuten.
10. insluiten in glycerine-gelatine.

Alkalische fosfatase (GOMORI 1952)

Het *substraat* wordt als volgt samengesteld en vers bereid voor iedere bepaling:

aqua dest.	100 cc
calciumchloride	2 gr
natriumbarbituraat	1 gr
10% magnesiumsulfaat	10 druppels
natrium β -glycerofosfaat	600 mg

In de aangegeven volgorde oplossen!

Voor gebruik wordt het substraat voorverwarmd op 40° C! Als controle wordt een substraat gebruikt, dat gelijk is aan het bovenstaande doch geen natrium β -glycerofosfaat bevat.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex
3. spoelen in aqua dest. (om fixatievloeistof te verwijderen).
4. gedurende 1 uur bij 37° C incuberen in het substraat.
5. 1 à 2 minuten (niet langer) spoelen in leidingwater.
6. 10 minuten cobaltnitraat 2% (op de coupes gieten).
7. 1 à 2 min. (niet langer) spoelen in leidingwater.
8. ¼ à ½ minuut natriumsulfide 2% (op de coupes gieten).
Deze oplossing mag niet ouder zijn dan 24 uur.
9. spoelen in leidingwater.
10. 10 minuten kernechtrood.
11. spoelen in aqua dest.
12. 2 maal 10 minuten in aceton.
13. 10 minuten in petroleumaether.
14. insluiten in neutrale balsem (malinol b.v.).

Resultaat: zwart neerslag van cobaltsulfide.

Zure fosfatase (GOMORI 1952)

- a. de voor het substraat benodigde 0,2 M acetaatbuffer wordt als volgt bereid:
10,8 cc geconcentreerd azijnzuur in 900 cc aqua dest.
57,2 gr natriumacetaat 3 H₂O in 2100 cc aqua dest.
In dit mengsel wordt 14,4 gr loodnitraat (in poedervorm) opgelost.
Daarna pH stellen en corrigeren op pH 5,0. Bewaren bij 4° C.
- b. Het *substraat* wordt als volgt bereid (voor iedere bepaling vers bereiden):
25 cc buffer pH 5,0.
85 cc aqua dest.
300 mg natrium β -glycerofosfaat.

Dit mengsel verwarmen (niet hoger dan 45° C) en filtreren.
 Als controle wordt een substraat gebruikt, dat gelijk is aan het bovenstaande doch geen natrium β -glycerofosfaat bevat.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. van 2 coupes wordt één gedurende 1 uur, de andere gedurende 2 uur bij 37° geïncubeerd in het substraat.
5. spoelen in leidingwater.
6. $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{2}$ minuut natriumsulfide 2% (op de coupes gieten).
7. spoelen in leidingwater.
8. 10 minuten kernechtrood.
9. spoelen in aqua dest.
10. 2 maal 10 minuten in aceton.
11. 10 minuten in petroleumaether.
12. laten drogen en insluiten in neutrale balsem (malinol b.v.).

Resultaat: bruin neerslag van loodsulfide.

5-Nucleotidase (WACHSTEIN en MEISEL 1957)

Het substraat wordt als volgt bereid (steeds vers bereiden):

adenosine 5-monofosfaat (spieradenylzuur)	
100 mg in 20 cc aqua dest.	20 cc
tris (hydroxymethyl) aminomethaan-maleaat	
(tris-maleaat) buffer pH 7,2; 0,2 M	20 cc
loodnitraat 2%	3 cc
magnesiumsulfaat 0,1 M	5 cc
aqua dest.	2 cc

Voor de bereiding van de tris-maleaatbuffer zie GOMORI (1952).

Als controle wordt een substraat gebruikt, dat gelijk is aan het bovenstaande doch in plaats van de spieradenylzuuroplossing alleen aqua dest. bevat.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. gedurende 1 uur bij 37° C incuberen in het substraat.
5. 1 min. spoelen in leidingwater.
6. $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{2}$ minuut natriumsulfide 2% (op de coupes gieten).
7. spoelen in leidingwater.
8. 10 minuten kernechtrood.
9. spoelen in leidingwater.

10. 2 maal 10 minuten in aceton.
11. 10 minuten in petroleumaether.
12. laten drogen en insluiten in neutrale balsem (malinol).

Resultaat: bruinzwart neerslag van loodsulfide.

Adenosinetrifosfatase (WACHSTEIN en MEISEL 1957)

Het *substraat* wordt als volgt bereid (steeds vers bereiden):

adenosine 5-trifosfaat (ATP) 25 mg/20 cc	20 cc
tris (hydroxymethyl) aminomethaan maleaat (tris-maleaat)	
buffer pH 7,2; 0,2 M	20 cc
loodnitraat 2%	3 cc
magnesiumsulfaat 0,1 M	5 cc
aqua dest.	2 cc

Voor de bereiding van de tris-maleaat buffer zie GOMORI (1952). Als controle wordt een substraat gebruikt, dat gelijk is aan het bovenstaande doch, in plaats van adenosine 5-trifosfaat, aqua dest. bevat.

Deze coupe ondergaat dus dezelfde behandeling als de controle van de 5-nucleotidase kleuring. Doet men beide kleuringen met hetzelfde materiaal, dan kan men dus met één controle volstaan.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. één coupe gedurende 15 minuten, een tweede gedurende 45 minuten bij 37° C incuberen in het substraat.
5. 1 minuut spoelen in leidingwater.
6. 1/4 à 1/2 minuut natriumsulfide 2% (op de coupe gieten).
7. spoelen in leidingwater.
8. 10 minuten kernechtrood.
9. spoelen in leidingwater.
10. 2 maal 10 minuten in aceton.
11. 10 minuten petroleumaether.
12. laten drogen en insluiten in neutrale balsem (malinol) b.v.

Resultaat: bruinzwart neerslag van loodsulfide.

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode, PEARSE 1960)

Het *substraat* wordt als volgt bereid:

1 cc van een 1% α -naphthylacetaat oplossing in 50% aceton (bewaren bij 4° C) wordt al schuddende opgelost in 50 cc aqua dest. Vervolgens worden toegevoegd:

1. Fast Blue B Salt 20–50 mg
2. 0,2 M dinatriumfosfaat (bewaren bij 4° C) 5 cc.

Mengen en filtreren. Het substraat moet kort voor gebruik gemaakt worden. De pH moet ongeveer 8 zijn.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. gedurende 5—30 minuten, of zolang tot de coupes purperzwart zijn (microscopische controle) bij kamertemperatuur incuberen in het substraat. Om diffusie van α -naphthol te voorkomen dient het substraat enkele malen af- en weer opgeschonken te worden.
5. spoelen in aqua dest.
6. 10 minuten kernechtrood.
7. spoelen in aqua dest.
8. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: zwart-bruin neerslag.

Niet-specifieke esterase (indoxylacetaatmethode, PEARSON en DEFENDI 1957)

Het substraat wordt — voor iedere bepaling vers — als volgt bereid:

12 mg 5-broomindoxylacetaat oplossen in 2 cc absolute alcohol en toevoegen aan

0,1 M tris/zoutzuur buffer pH 6,2	20 cc
0,05 M kaliumferricyanide	10 cc
0,05 M kaliumferrocyanide	10 cc
0,1 M calciumchloride	10 cc
aanvullen met aqua dest. tot	100 cc

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. gedurende $\frac{1}{2}$ —8 uur of zolang tot de coupes blauw zijn bij 37° C incuberen in het (niet voorverwarmde!) substraat.
5. spoelen in aqua dest.
6. 10 minuten kernechtrood.
7. spoelen in aqua dest.
8. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: blauw neerslag.

Niet-specifieke esterase (naphthol AS-D acetaatmethode, GÖSSNER 1958)

Het substraat wordt bereid door de volgende stoffen in de aangegeven volgorde bij elkaar te voegen:

25 mg naphthol AS-D acetaat in	
10 cc dimethylformamide	10 cc

aqua dest.	30 cc
0,2 M fosfaatbuffer pH 6,8	50 cc
Echt Blau Salz BB (geconcentreerd)	
100 mg/10 cc aqua dest.	10 cc

De fosfaatbuffer wordt bereid door de volgende stoffen bij elkaar te voegen in gelijke hoeveelheden:

0,2 M Na ₂ HPO ₄	2H ₂ O	3,56 gr in 100 cc aqua dest.
0,2 M NaH ₂ PO ₄	H ₂ O	2,76 gr in 100 cc aqua dest.

pH controleren. Oplossingen bewaren bij 4° C.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 min. fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
3. spoelen in aqua dest.
4. gedurende 1 uur (onder microscopische controle) bij kamertemperatuur incuberen in het substraat (dit vers bereiden en voor gebruik filtreren!).
5. Spoelen in aqua dest.
6. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: Blauw neerslag.

Leucine aminopeptidase (BURSTONE and FOLK, 1956)

Het *substraat* wordt als volgt, steeds vers voor iedere bepaling, bereid:

1 cc van een 1% stamoplossing van L-leucyl- β -naphthylamide (be- waard bij 4° C) wordt druppelsgewijs en al schuddend gevoegd bij:	
aqua dest.	40 cc
tris (hydroxymethyl) aminomethaanbuffer pH 7,2; 0,2 M	10 cc

Daarna toevoegen 50 mg Brentamine Fast Garnet GBC salt, dan schudden en filtreren.

De trisbuffer wordt als volgt bereid:

Stamoplossing: 29 gr. maleïnezuur en 30,3 gr tris oplossen in 500 cc aqua dest. Ongeveer 2 gr. carbo activatus toevoegen, schudden, 10 min. laten staan en filtreren.

Gebruiksooplossing: 40 cc stamoplossing mengen met 20 cc. 1 N Natronloog en met aqua dest. aanvullen tot 100 cc.

Daarna pH controleren.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. 10 minuten fixeren in *aceton*, daarna aceton afgieten, de coupe even laten drogen en dan meteen
3. substraat op de coupe gieten. Gedurende $\frac{3}{4}$ à 1½ uur incuberen bij kamertemperatuur (eventueel onder microscopische controle).

4. Spoelen in aqua dest.
5. eventueel haematoxyline (Böhmer) 3—5 minuten (zonder te differentiëren!)
- 6) spoelen in leidingwater 10 minuten.
7. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: rood neerslag.

Wil men de aminopeptidasekleuring uitvoeren in sterk versneld tempo (b.v. op vriescoupes tijdens een operatie) dan kan de fixatie in aceton (punt 2) worden beperkt tot enkele ogenblikken. De incubatietijd kan bij een hoge activiteit van het enzym (zoals b.v. bij een maagcarcinoom kan worden verwacht) worden teruggebracht tot enkele minuten. De coupe kan daarna direct worden bekeken (waarbij nog enig substraat op de coupe aanwezig blijft).

Barnsteenzuurdehydrogenase (NACHLAS e.a. 1957)

Het *substraat* wordt bereid door de volgende stoffen in de aangegeven volgorde bij elkaar te voegen:

Nitro BT 1 mg/cc (bewaren bij 4° C)	2 cc
fosfaatbuffer pH 7,6 0,2 M bewaren bij 4° C	1 cc
natriumsuccinaat 0,2 M (3,24 gr in 100 cc aqua dest.)	1 cc
calciumchloride 0,03 M (350 mg in 100 cc aqua dest.)	0,02 cc
aluminium chloride 0,01 M (132 mg in 100 cc aqua dest.)	0,08 cc
natriumbicarbonaat 0,6 M (500 mg in 10 cc aqua dest.)	0,20 cc

Van deze laatste stof moet steeds een verse oplossing worden gemaakt. pH van het substraat controleren en zonodig bijstellen.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. niet fixeren.
3. gedurende ongeveer 1 uur bij 37° C incuberen in het substraat, dat op de coupes wordt gedruppeld, tot deze juist zijn bedekt. Eventueel microscopische controle.
4. spoelen in aqua dest.
5. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
6. spoelen in aqua dest.
7. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: blauw neerslag.

Melkzuurdehydrogenase (DPN) (NACHLAS e.a. 1958 a)

Het *substraat* wordt als volgt (steeds voor iedere bepaling vers) bereid:
kaliumlactaat 0,5 M (1,28 cc van de 50% w/w oplossing, aanvullen tot 10 cc met aqua dest. Bewaren bij 4° C) 0,6 cc

DPN 5 mg/cc (bewaren bij 4° C)	0,3 cc
Nitro BT 5 mg/cc (bewaren bij 4° C)	0,3 cc
fosfaatbuffer pH 7,4 0,2 M	1,0 cc
aanvullen met aqua dest. tot	3,0 cc

De fosfaatbuffer wordt bereid door de volgende oplossingen te mengen:

80 cc	0,2 M	Na ₂ HPO ₄
20 cc	0,2 M	NaH ₂ PO ₄

Daarna pH controleren en zonodig bijstellen met NaOH.

Voor het bepalen van de activiteit van DPNH-diaphorase in plaats van die van melkzuurdehydrogenase dient aan het bovenstaande substraat nog 1,5% melkzuurdehydrogenase 0,2 cc toegevoegd te worden.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. gedurende 5—60 minuten (onder microscopische controle al naar gelang de kleurintensiteit) bij 37° C incuberen in het substraat, dat op de coupes wordt gedruppeld tot deze juist zijn bedekt.
3. spoelen in aqua dest.
4. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
5. eventueel spoelen in 10% aethanol om het rode reactieproduct te verwijderen.
6. spoelen in aqua dest.
7. insluiten in glycerine-gelatine

Resultaat: blauw neerslag.

β-Hydroxyboterzuurdehydrogenase (DPN) (NACHLAS e.a. 1958 a)

Geheel als het voorschrift voor melkzuurdehydrogenase, doch inplaats van kaliumlactaat wordt gebruikt: natrium *β*-hydroxybutyraat 1 M 1,2 cc dat als volgt wordt bereid:

2,08 gr *β*-hydroxyboterzuur wordt opgelost in 10 cc aqua dest en daarna gemengd met 10 cc 1 N natronloog. De verkregen oplossing is 1 M natrium *β*-hydroxybutyraat.

Resultaat: blauw neerslag.

Isocitroenzuurdehydrogenase (TPN) (NACHLAS e.a. 1958 b)

Het substraat wordt als volgt bereid:

natrium DL-isocitraat 0,1 M (96 mg/5 cc) (bewaren bij 4° C)	0,6 cc
natrium L. malaat 0,5 M (790 mg/10 cc) (bewaren bij 4° C)	0,5 cc
mangaanchloride 0,005 M (63 mg/100 cc)	0,3 cc
TPN 5 mg/cc (bewaren bij 4° C)	0,2 cc
Nitro BT 5 mg/cc	0,3 cc
veronalbuffer 0,05 M, pH 7,4, aanvullen tot	3,0 cc

De stamoplossingen van natrium DL-isocitraat en natrium L-malaat worden bijgesteld tot pH 7,4. Voor het toevoegen van TPN en Nitro BT weer de pH controleren en eventueel bijstellen tot pH 7,4 (met druppeltjes 1 N natronloog).

De veronalbuffer is bereid volgens GURR (1958) (41,9 cc 0,05 N HCl en 58,1 cc van een oplossing, die 5,15 gr. natriumveronal per 500 cc aqua dest. bevat).

Het substraat kan gedurende een hele dag worden gebruikt voor ongeveer 20 coupes. Alle stamoplossingen worden bewaard bij 4° C.

Voorschrift:

1. cryostaatcoupes.
2. gedurende 20 minuten—1 uur (onder microscopische controle al naar gelang de kleurintensiteit) bij 37° C incuberen in het substraat, dat op de coupes wordt gedruppeld tot deze juist zijn bedekt.
3. spoelen in aqua dest.
4. 10 minuten fixeren in formaline-calciumchloride-Macrodex.
5. spoelen in aqua dest.
6. insluiten in glycerine-gelatine.

Resultaat: blauw neerslag.

Glucose 6-fosfaatdehydrogenase (TPN) (NACHLAS e.a. 1958 b)

Geheel als het voorschrift voor isocitroenzuurdehydrogenase, doch in plaats van natrium DL-isocitraat en natrium L-malaat wordt gebruikt:

natriumglucose 6-fosfaat. 0,06 M (32 mg/17 cc aqua dest.) 1,0 cc.

De gebruikte chemicaliën zijn afkomstig van:

adenosine-5-monofosfaat: Boehringer
adenosine-5-trifosfaat: Boehringer
aluminiumchloride: Brocades
aluminiumsulfaat: Brocades
azijnzuur, geconcentreerd: Brocades
Brentamine Fast Garnet G.B.C. salt: I.C.I.
5-broomindoxylacetaat: Dajac
calciumchloride: B.D.H.
carbo activatus siccus (p.a.): Merck
cobaltnitraat: Merck
dimethylformamide: Merck
D.P.N. (difosfopyridinenucleotide): Boehringer
Echt Blau Salz BB: Willighagen
Fast Blue B Salt: Gurr
Fast Blue RR Salt: Gurr
glucose 6-fosfaat (natriumzout) Boehringer
 β -hydroxyboterzuur: Sigma

DL isocitroenzuur: Sigma
kaliumdihydrofosfaat: Merck
kaliumlactaat 50% W/W: Hopkin
kernechtrood: Merck
L-leucyl β -naphthylamide: Dajac
loodnitraat: B.D.H.
Macrodex: Poviet
magnesiumsulfaat: Brocades
maleïnezuur: Merck
Malinol: Chroma
mangaanchloride p.a.: Lamers
melkzuurdehydrogenase: Boehringer
naphthol AS-D acetaat: Willighagen
 α -naphthylacetaat (2380): Eastman
natriumacetaat CMN 3H₂O: Lamers
natriumbarbituraat: Brocades
natriumbicarbonaat: Brocades
natriumdihydrofosfaat: Merck
natrium- β -glycerofosfaat: B.D.H.
natriummalaat: Hopkin
natriummonohydrofosfaat (volgens Sörensen): Merck
natriumsuccinaat: Brocades
natriumsulfide: Brocades
Nitro BT (Nitro blue tetrazolium chloride): Dajac
TPN (trifosfopyridinenucleotide): Boehringer
tris (hydroxymethyl) aminomethaan: Boehringer

BETEKENIS VAN DE GEBRUIKTE AFKORTINGEN

Boehringer	:	C. F. Boehringer und Soehne G.m.b.H. Mannheim, Deutschland.
B.D.H.	:	British Drug Houses Ltd., Poole, England.
Brocades	:	Brocades, Stheeman en Pharmacia, Amsterdam.
Chroma	:	Chroma Gesellschaft, Stuttgart-Untertürkheim, Deutschland.
Dajac	:	Dajac Laboratories, The Borden Chemical Company, 5000 Langdon Street, Philadelphia 24, Pennsylvania, U.S.A.
Eastman	:	Eastman Organic Chemicals, Rochester 3, New York, U.S.A.
Gurr	:	G.T. Gurr Ltd., London S.W. 6, England.
Hopkin	:	Hopkin and Williams Ltd., Chadwell Heath, Essex, England.
I.C.I.	:	Imperial Chemical Industries Ltd., Dyestuffs Division, Blackley, Manchester, England.
Lamers	:	Dr. Lamers en Dr. Indemans N.V. 's-Hertogenbosch.
Merck	:	E. Merck A.G. Darmstadt, Deutschland.
Poviet	:	Poviet Producten N.V. Amsterdam.
Sigma	:	Sigma Chemical Company, 3500 Dekalb Street, St. Louis 18, Missouri U.S.A.
Willighagen	:	Dr. R. G. J. Willighagen, Pathologisch laboratorium, Wassenaarseweg, Leiden.

ILLUSTRATIES

Activiteit van enzymen in het normale slijmvlies uit het corpusgebied van de menselijke maag $\times 35$.

FIG. 1

Alkalische fosfatase: alleen de capillairen zijn positief.
Alle epitheelcellen zijn negatief.

FIG. 2

Zure fosfatase: vooral de hoofdcellen in het basale deel van het slijmvlies tonen een duidelijke activiteit. De andere epitheelcellen tonen een lagere activiteit.

FIG. 3

Adenosinetrifosfatase: de dekcellen, die vooral in de middelste zone van het slijmvlies aanwezig zijn, tonen een duidelijke activiteit.

FIG. 4

Niet-specifieke esterase (α -naphthyl acetaat methode): alle epitheelcellen tonen activiteit; de dekcellen zijn het sterkst positief.

FIG. 5

Niet-specifieke esterase (broomindoxylacetaat methode): het beeld komt ongeveer overeen met fig. 4.

FIG. 6

Barnsteenzuurdehydrogenase: de dekcellen tonen een hoge activiteit, de andere epitheelcellen zijn slechts zwak positief.

FIG. 7

Melkzuurdehydrogenase: alle epitheelcellen zijn positief, de dekcellen iets sterker dan de andere cellen.

FIG. 8

β -Hydroxyboterzuurdehydrogenase: het beeld komt ongeveer overeen met fig. 7, de dekcellen zijn hier duidelijk sterker positief dan de andere cellen.

FIG. 9

Glucose 6-fosfaat dehydrogenase: het beeld komt ongeveer overeen met fig. 8.

FIG. 10

Leucine aminopeptidase: het gehele slijmvlies is negatief.

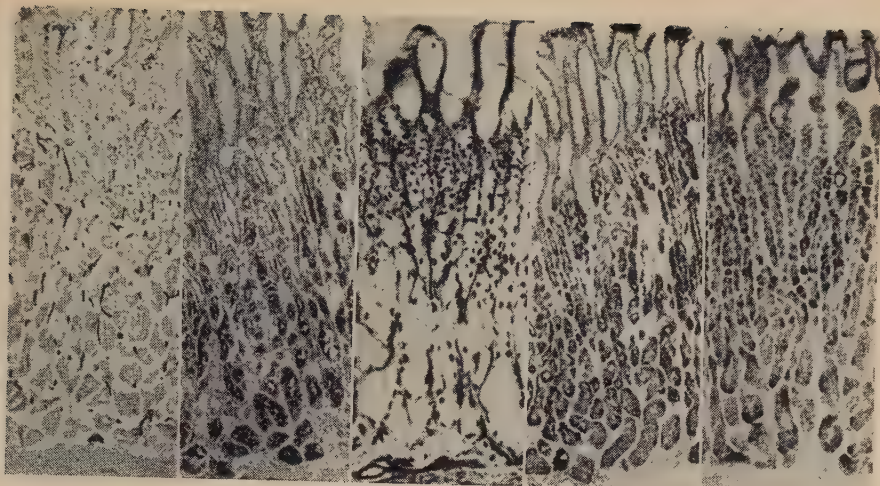


FIG. 1

FIG. 2

FIG. 3

FIG. 4

FIG. 5

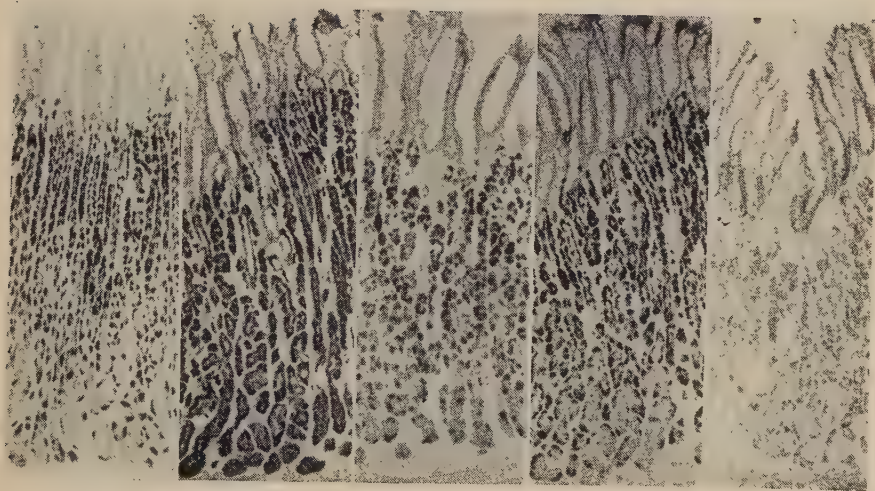


FIG. 6

FIG. 7

FIG. 8

FIG. 9

FIG. 10

Intestinale metaplasie

FIG. 11

Aan de rechterzijde het metaplastische epitheel met scherp begrensde apicale rand (borstelzoom) en enkele bekerzellen. Aan de linkerzijde het normale oppervlakte-epitheel van de maag met slijmnapcellen. Haematoxyline eosine $\times 480$.

FIG. 12

Argentaffiene cellen in intestinale metaplasie. Ter vergelijking aan de linkerzijde enkele praepylorische klieren, waarin vrijwel geen argentaffiene cellen worden gevonden. Methenaminezilver (Gomori) $\times 120$.

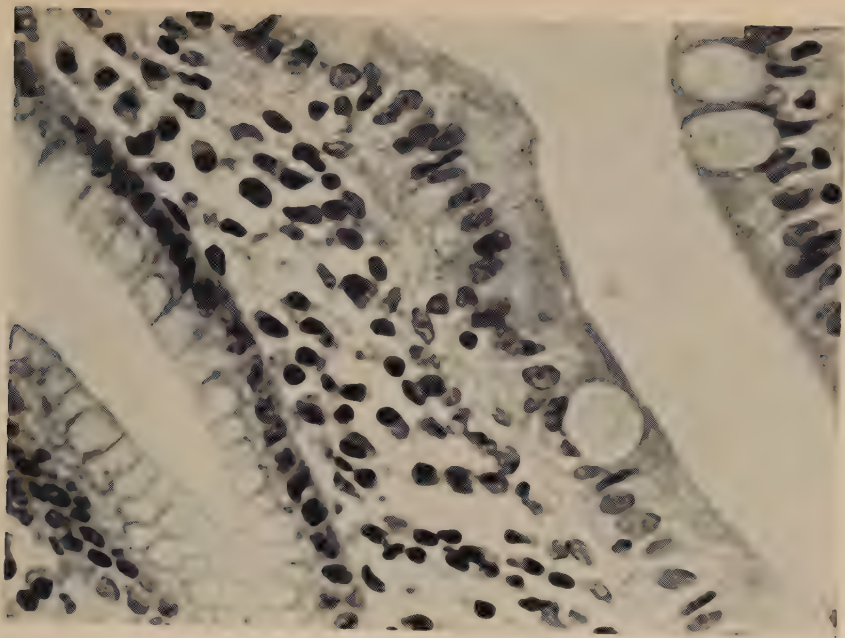


FIG. 11

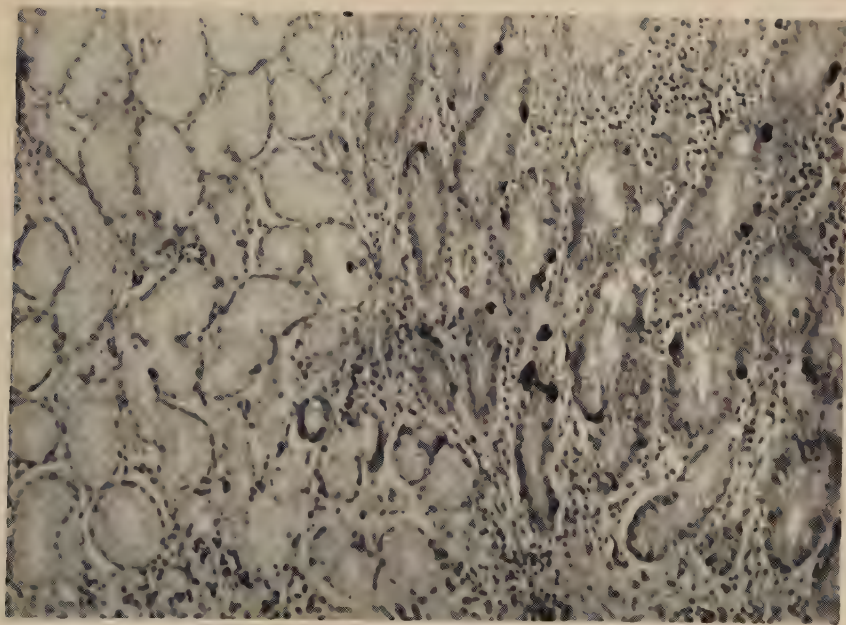


FIG. 12

Intestinale metaplasie. Slijmkleuringen.

FIG. 13

De borstelzoom en de bekercellen van intestinaal metaplastisch epitheel (rechts) en de gehele slijmnap van het normale oppervlakte-epitheel van de maag (links) zijn P.A.S.-positief. P.A.S.-kleuring $\times 120$.

FIG. 14

De bekercellen en in mindere mate ook de borstelzoom van het intestinaal metaplastische epitheel kleuren positief met astrablau (links), terwijl het normale oppervlakte-epitheel geheel negatief is (rechts). Astrablau $\times 120$.



FIG. 13

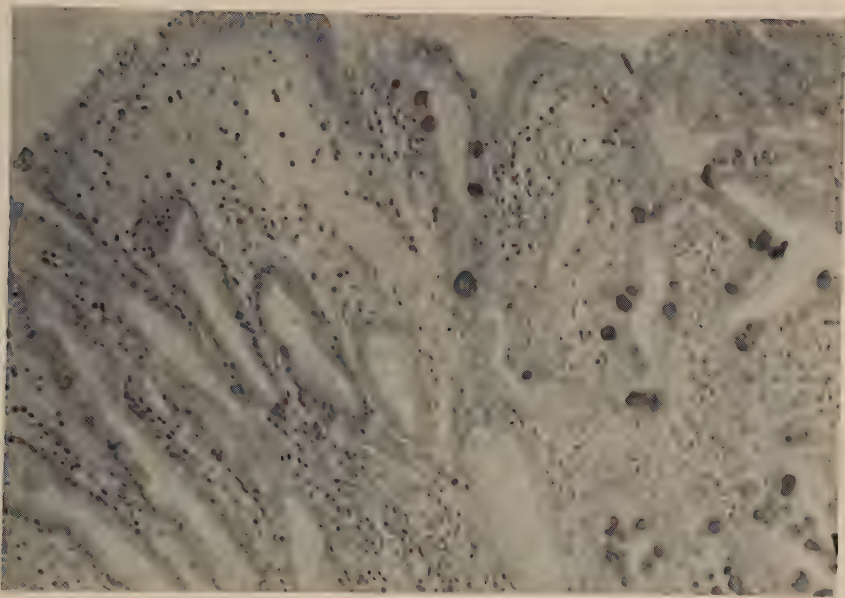


FIG. 14

Intestinale metaplasie. Enzymkleuringen.

FIG. 15

Haematoxyline eosine kleuring. Boven het normale oppervlakte-epitheel, onder intestinale metaplasie. De bekercellen vallen duidelijk op in de intestinale metaplasie. $\times 100$.

FIG. 16

Alkalische fosfatase: de borstelzoom en het Golgi-systeem van de intestinale metaplasie (onder) tonen een hoge activiteit. In het normale slijmvlies (boven) zijn slechts de capillairen positief $\times 100$.

FIG. 17

Zure fosfatase: de activiteit van dit enzym is in intestinale metaplasie (onder) veel hoger dan in normaal oppervlakte-epitheel van de maag (boven). $\times 100$.

FIG. 18

Adenosinetrifosfatase: De borstelzoom van intestinale metaplasie (onder) toont een hoge activiteit, terwijl het normale oppervlakte-epitheel (boven) negatief is $\times 100$.

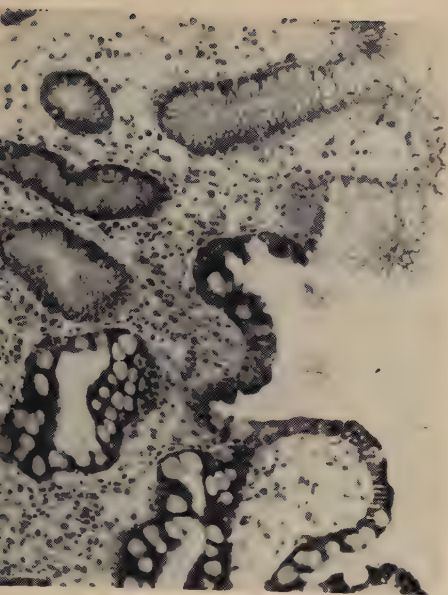


FIG. 15

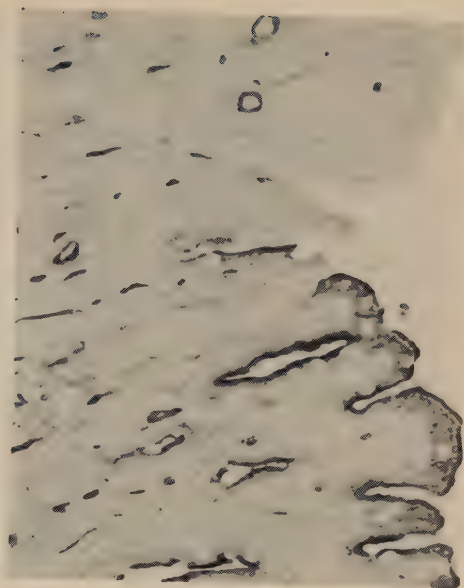


FIG. 16

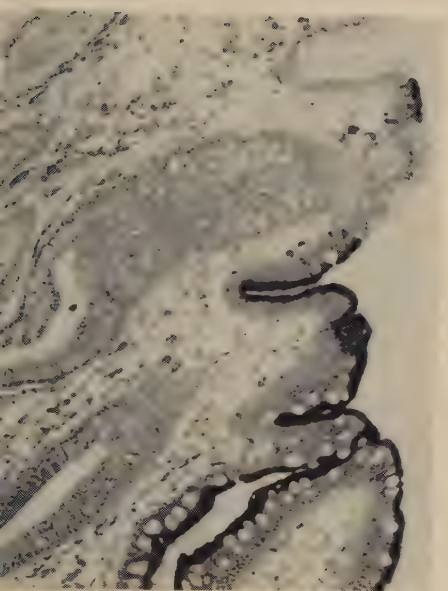


FIG. 17



FIG. 18

Intestinale metaplasie. Enzymkleuringen.

FIG. 19

Niet-specifieke esterase (α -naphthylacetaatmethode): de activiteit is in intestinale metaplasie (onder) veel hoger dan in het normale epitheel (boven). De activiteit van dit enzym is niet beperkt tot de apicale rand $\times 100$.

FIG. 20

Barnsteenzuurdehydrogenase: ook hier een veel hogere activiteit in het intestinaal metaplastische epitheel (onder) $\times 100$.

FIG. 21

Melkzuurdehydrogenase: het beeld komt overeen met fig. 20.

FIG. 22

Leucine aminopeptidase: In het gebied van de borstelzoom van het intestinaal metaplastische epitheel wordt een hoge activiteit gevonden. Het normale oppervlakte-epitheel is negatief $\times 100$.

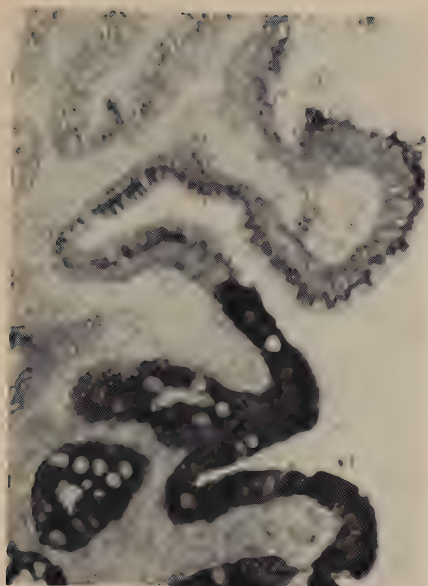


FIG. 19

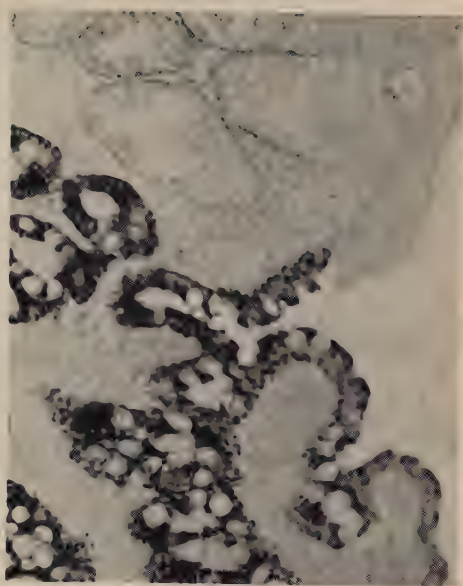


FIG. 20

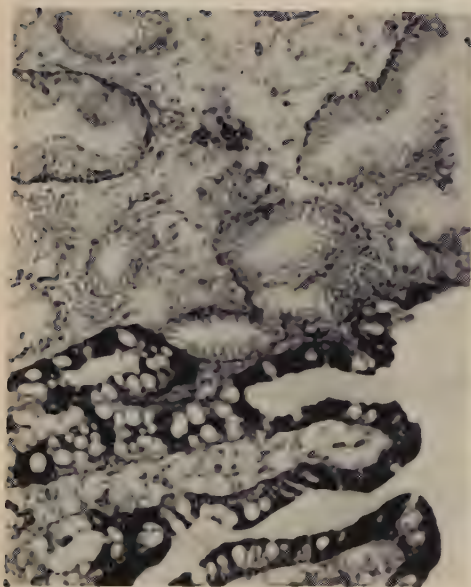


FIG. 21



FIG. 22

Ulcus pepticum chronicum.

FIG. 23

De muscularis toont alleen op de plaats, waar deze in de ulcusbodem eindigt, een duidelijke activiteit van alkalische fosfatase. Deze activiteit is veel hoger dan die van het omgevende bindweefsel $\times 30$.

FIG. 24

Leucine aminopeptidase toont een duidelijke activiteit in de fibroblasten in een thrombusmassa, die georganiseerd wordt. Boven en onder links is de lengtedoorsnede zichtbaar van een arterietak, die in de ulcusbodem eindigt en door deze thrombusmassa wordt afgesloten $\times 120$.

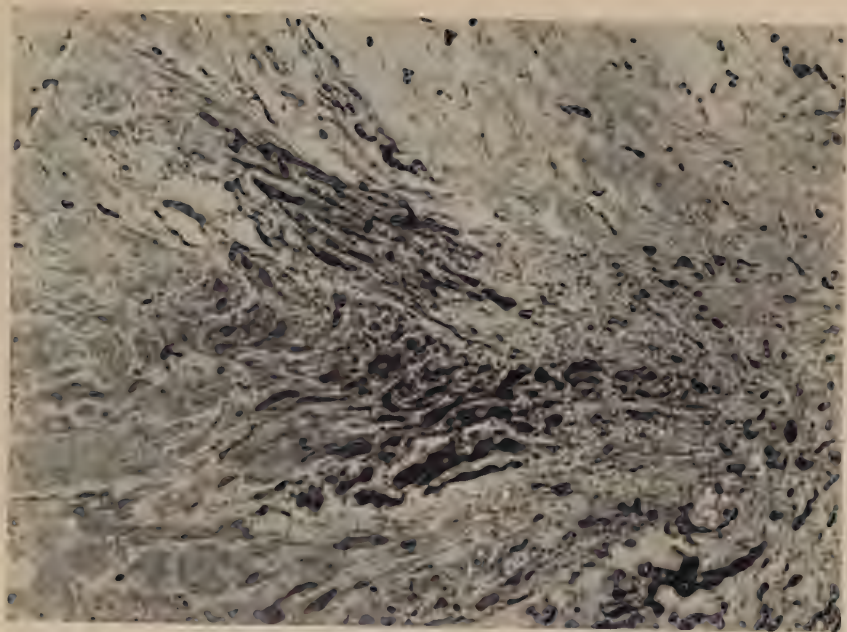


FIG. 23

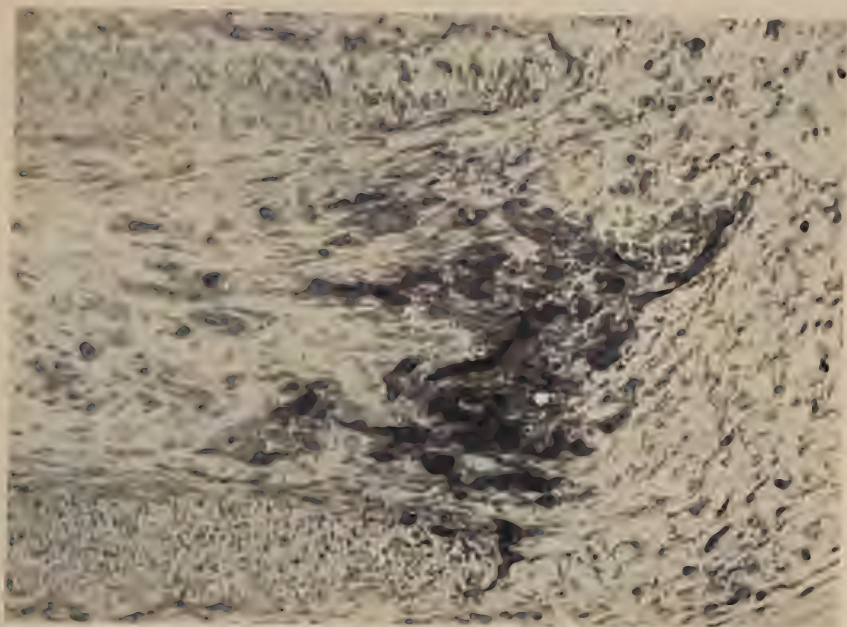


FIG. 24

Maagcarcinoom. Enzymkleuringen.

FIG. 25

Hoge activiteit van zure fosfatase in een ongedifferentieerd carcinoom, dat in kleine strengetjes in de muscularis woekert. P.A. 4142/59 $\times$ 120.

FIG. 26

Goed gedifferentieerd adenocarcinoom, waarin de activiteit van 5-nucleotidase beperkt blijft tot de apicale celrand en de capillairen in het stroma. P.A. 6560/59 $\times$ 120.

FIG. 27

In een ongedifferentieerd carcinoom tonen de tumorcellen, die in de muscularis woekeren, een duidelijke activiteit van niet-specifieke exterase (α -naphthyl-acetaatmethode) P.A. 5022/59 $\times$ 120.

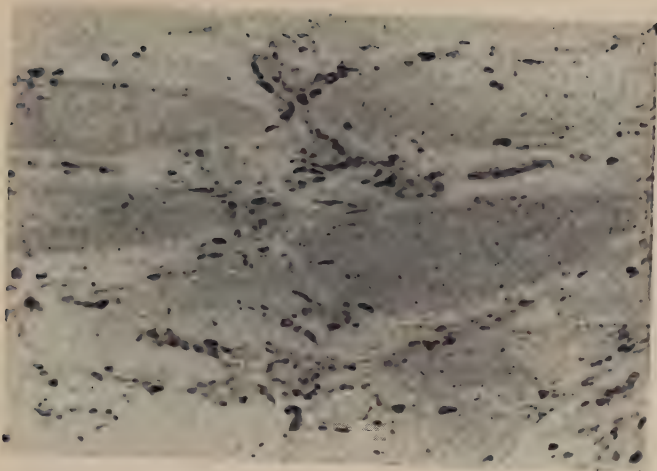


FIG. 25

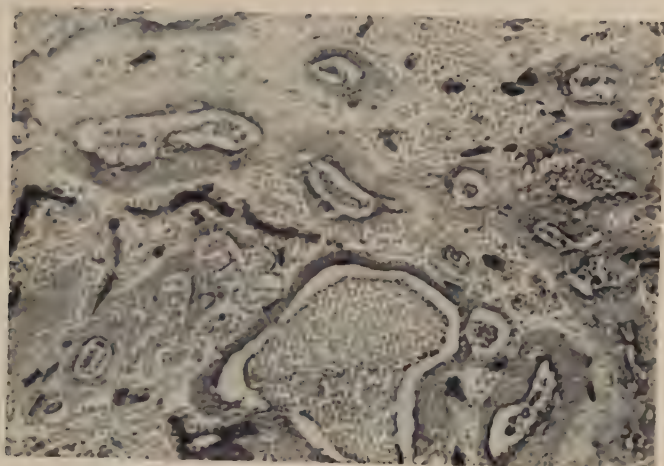


FIG. 26

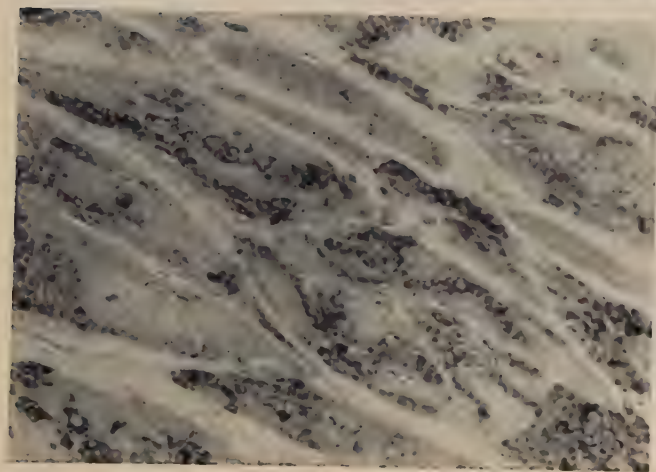


FIG. 27

Maagcarcinoom. Enzymkleuringen.

FIG. 28

Hoge activiteit van leucine aminopeptidase in een ongedifferentieerd carcinoom. De tumorstrengjes woekeren in de muscularis. P.A. 4458/59 $\times$ 300.

FIG. 29

Hoge activiteit van leucine aminopeptidase in een lymfkliermetastase van een maagcarcinoom. De tumorcellen liggen rondom een lymffollikel gerangschikt. P.A. 5159/59 $\times$ 120.

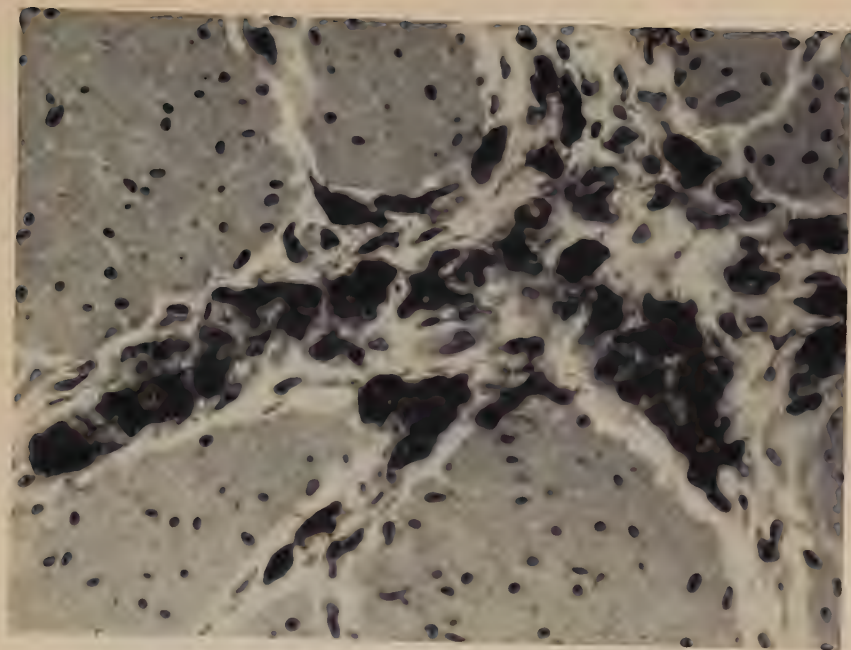


FIG 28

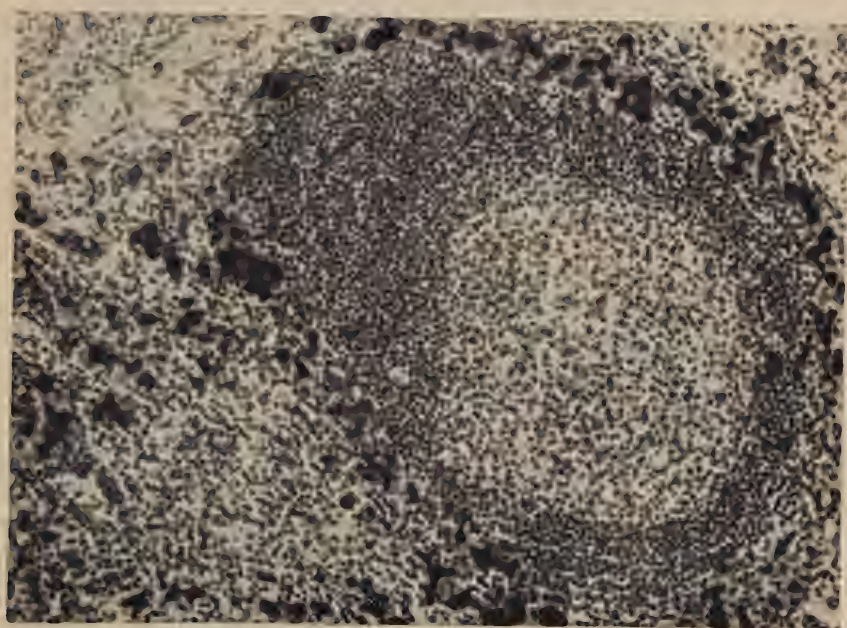


FIG. 29

Maagcarcinoom. Structuren, die aan dunne darmepitheel doen denken.
(P.A. 3739/60).

FIG. 30

Haematoxyline eosinekleuring. Aan de linker zijde carcinoomcellen met een borstelzoom en enkele bekerzellen, aan de rechterzijde bevindt zich normaal oppervlakte-epitheel $\times 480$.

FIG. 31

Astrablaukleuring. De borstelzoom en de bekerzellen van dit carcinomateuze epitheel zijn overal positief $\times 480$.

FIG. 32

Leucine aminopeptidase toont een hoge activiteit op vele plaatsen langs de apicale celrand $\times 120$.

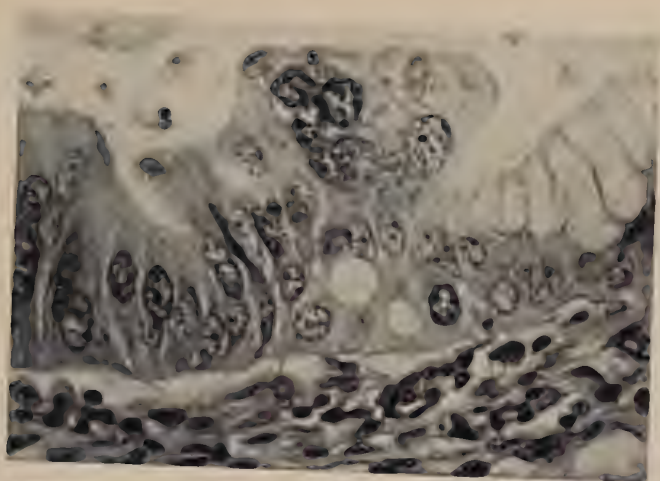


FIG. 30



FIG. 31



FIG. 32

Reticulosarcoom

FIG. 33

Haematoxyline eosinekleuring. P.A. 623/60 $\times$ 120.

FIG. 34

In verspreid liggende tumorcellen wordt een hoge activiteit van zure fosfatase gevonden. De andere tumorcellen zijn negatief.

P.A. 623/60 $\times$ 120.

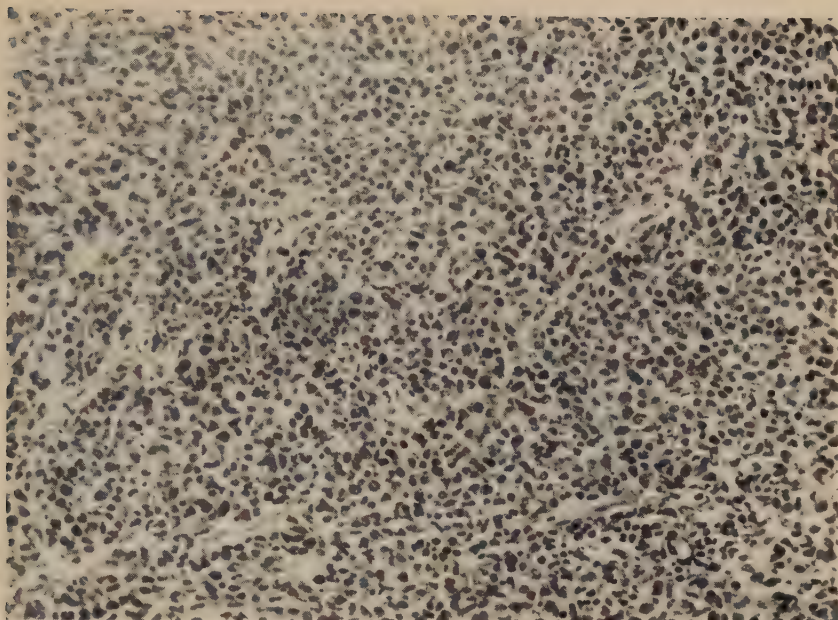


FIG. 33

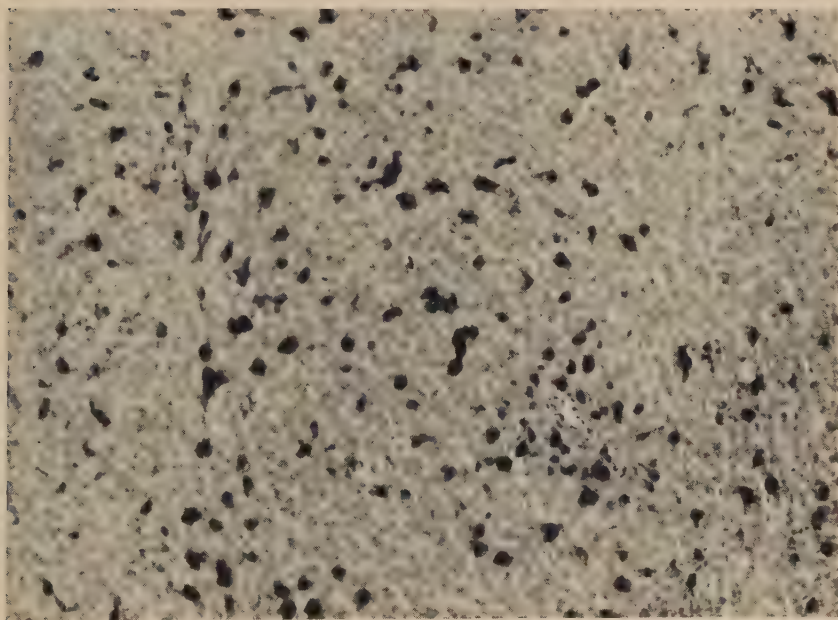


FIG. 34

Muizemaag

FIG. 35

Perifeer in de klierbuizen van het corpusgebied van het normale maagslijmvlies van de muis komen cellen voor, die een duidelijke activiteit van alkalische fosfatase tonen. De aard van deze cellen is onbekend. M 423 $\times 400$.

FIG. 36

In de submucosa doorgesproeiide tumor van de muizemaag, 65 dagen na een intramuraal injectie van 20-methylcholanthreen. Elders groeit deze tumor tot in de muscularis door. Haematoxyline eosinekleuring. M 421 $\times 40$.



FIG. 35



FIG. 36

Experimentele tumor in de muizemaag, doorgegroeid tot in de omgevende organen (pancreas); het dier werd 139 dagen na een intramurale injectie van 20-methylcholanthreen gedood. M 435 × 30.

FIG. 37

Haematoxyline eosine kleuring. Goed gedifferentieerd adenocarcinoom, door-groei in pancreas (onderzijde); voormaag, rechtsboven.

FIG. 38

Alkalische fosfatase: plaatselijk (rechts onder) in de tumor een duidelijke activi-teit, elders alleen op enkele plaatsen in het stroma. Aan de bovenzijde lever-weefsel, dat tegen het maagslijmvlies aangelegd werd om dit te steunen tijdens het snijden in de cryostaat.

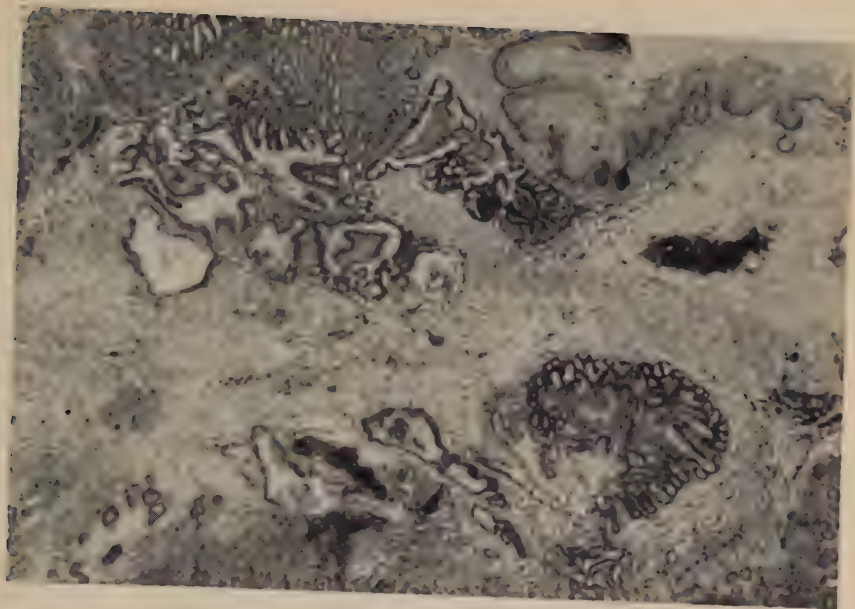


FIG. 37

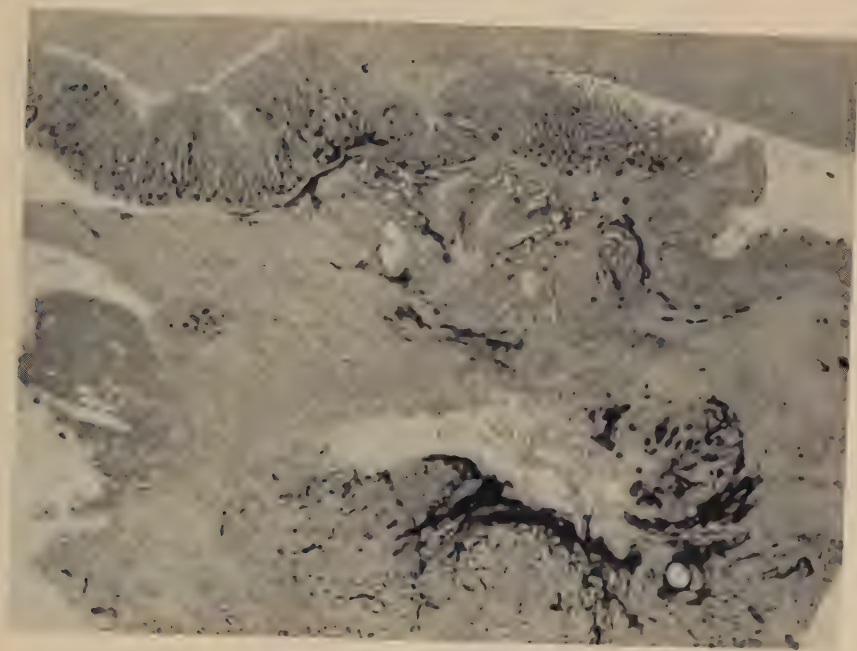


FIG. 38

Experimentele tumor in de muizemaag, doorgroeid tot in de omgevende organen; het dier werd 139 dagen na een intramurale injectie van 20-methylcholanthreen gedood. M 435 × 30.

FIG. 39

5-Nucleotidase: de tumor toont op de meeste plaatsen een hoge activiteit. De localisatie van de tumor is goed zichtbaar door de hoge activiteit in de spierlagen.

FIG. 40

Niet specifieke esterase (broomindoxylacetaatmethode): wisselende activiteit in het tumorweefsel. De 20-methylcholanthreen depots zijn als ophopingen van kristallen zichtbaar (links onder en even rechts van het midden).



FIG. 39

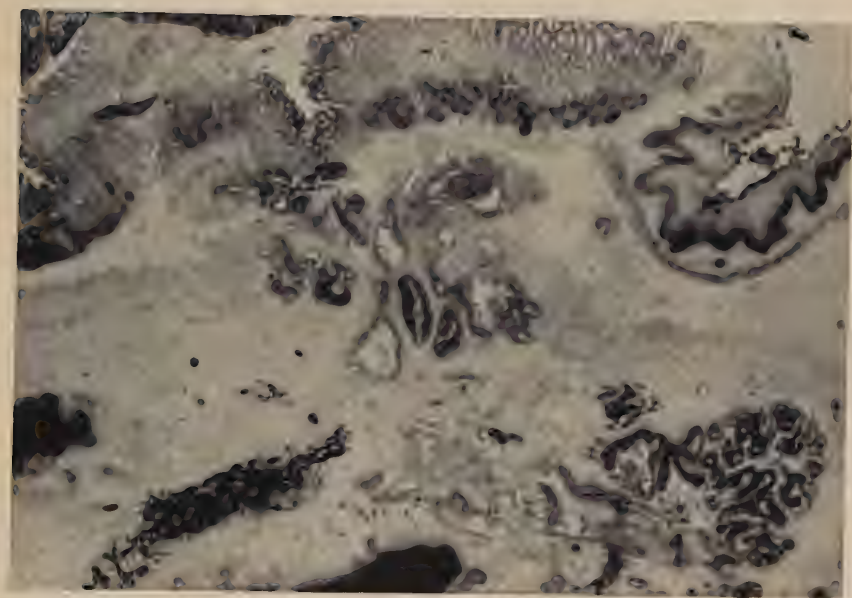


FIG. 40

Experimentele tumor in de muizemaag

FIG. 41

Verschillende celtypen in een tot de submucosa beperkt gebleven tumor. Het dier werd 42 dagen na een intramurale injectie van 20-methylcholanthreen gedood. De cellen rechts onder doen aan dunne darmepitheel denken, de cellen rechtsboven aan de slijmnapcellen van het oppervlakte-epitheel van de maag. Haematoxyline eosine kleuring. M 419 $\times$ 300.

FIG. 42

Sterkere vergroting van het rechter onderveld van fig. 38. Activiteit van alkalische fosfatase in het apicale deel van de tumorcellen.

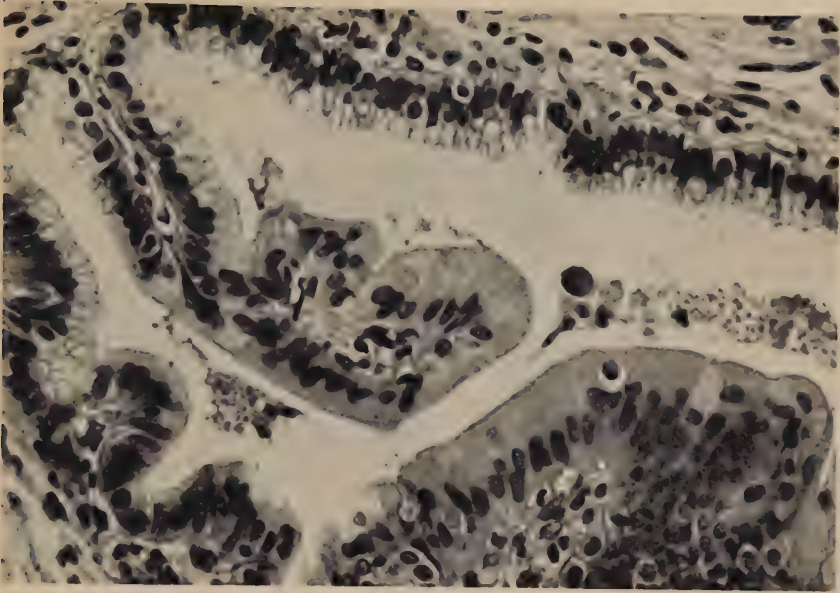


FIG. 41

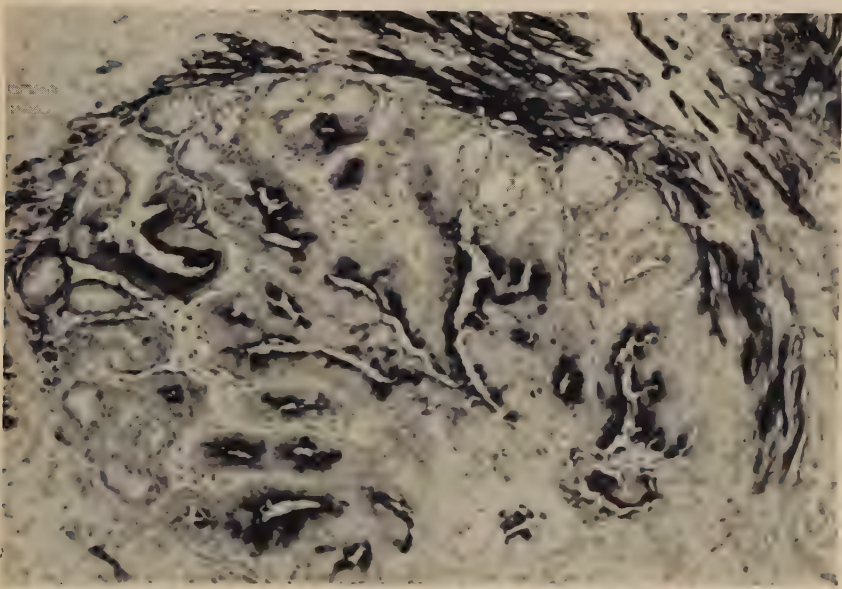


FIG. 42

Maagcarcinoom bij mastomys natalensis

FIG. 43

De tumor breidt zich voornamelijk in de submucosa en de mucosa uit. Links boven in het slijmvlies geulcereerd. In het centrum een cysteuze klierbuis
Haematoxyline eosinekleuring. W 348 $\times 18$.

FIG. 44

Sterkere vergroting van dezelfde tumor van fig. 43. Matig gedifferentieerd adenocarcinoom, dat soms in kleine strengetjes groeit.

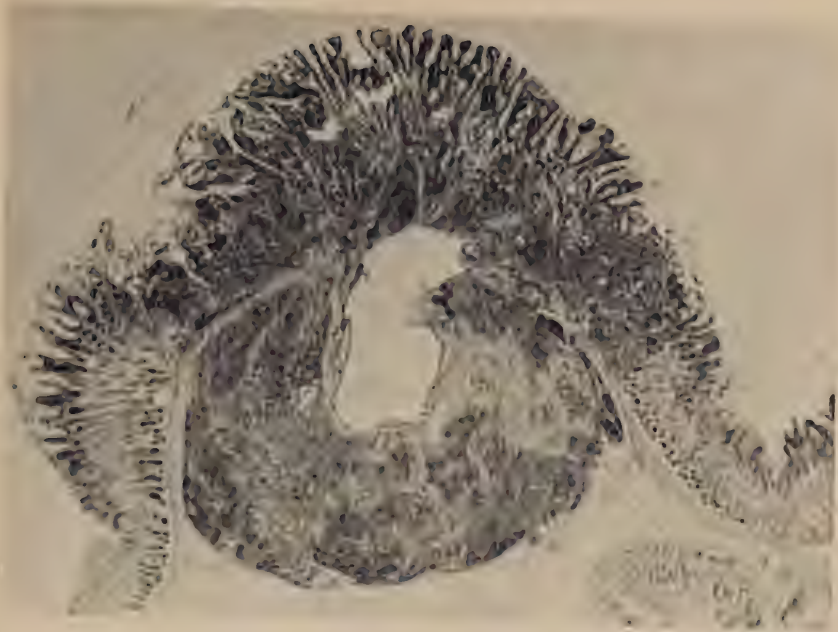


FIG. 43

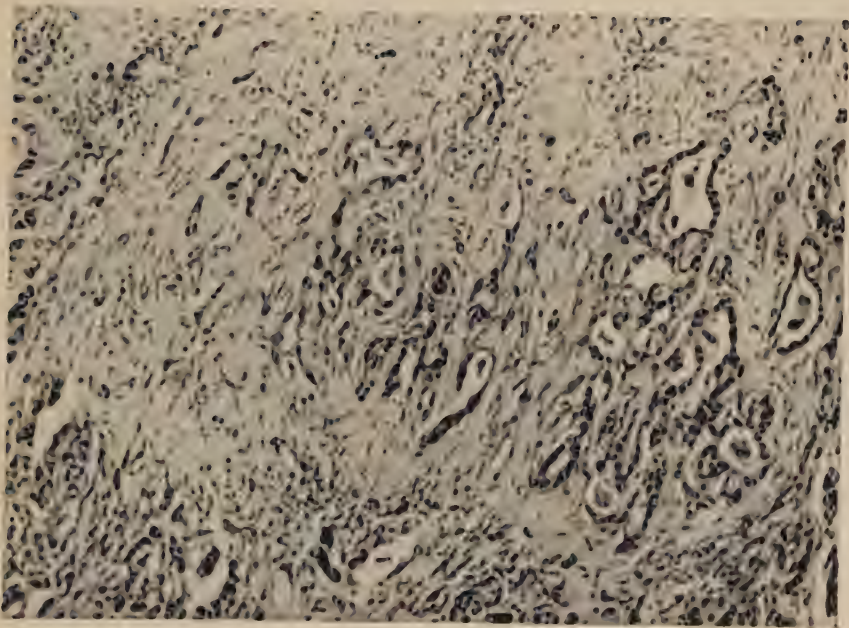


FIG. 44

STELLINGEN

1. De activiteit van leucine aminopeptidase in maagcarcinoom dient beschouwd te worden als een teken van differentiatie van de tumorcellen in de richting van dunne darmepitheel.
2. Intestinale metaplasie is geen obligate voorloper van maagcarcinoom, doch wijst wel op een toestand van versterkte regeneratie, waarbij maagcarcinoom frequenter ontstaat.
3. Bij het cytodiagnostisch onderzoek dienen de uitstrijkmethode en de insluitmethode, voor zover de aard van het materiaal dit toelaat, naast elkaar gebruikt te worden.
4. Punctiebiopsie in een gelocaliseerd, nog niet duidelijk gemetastaseerd gezwel dient vermeden te worden.
5. De regeneratie van het endotheel van de grote arteriën geschiedt vanuit het aangrenzende intacte endotheel en niet vanuit fibroblasten.
6. Teneinde de problemen der immuniteitsreacties bij homologe orgaantransplantaties te verminderen, dient meer aandacht te worden besteed aan transplantaties van foetale weefsels.
7. Histochemisch enzymonderzoek kan belangrijke resultaten opleveren, ook al is de functie van het betrokken enzym in het weefsel niet bekend.
8. Bij het haematologisch routineonderzoek verdient de bepaling van de haematokrietwaarde verre de voorkeur boven het tellen van erythrocyten in een telkamer.
9. Er zijn onvoldoende argumenten om het zg. myxoma cordis als een neoplasma te beschouwen.
10. Vriescoupeonderzoek tijdens de operatie is slechts dan aangewezen, indien de chirurgische gedragslijn afhankelijk is van de uitslag van dit onderzoek.
11. Medisch wetenschappelijk speurwerk dient, voor zover de aard van dit speurwerk het toelaat, ook in de perifere ziekenhuizen en medische laboratoria verricht te worden.

